

Aus dem Physiologischen Institut der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. G. ten Bruggencate

Prof. Dr. E. Gerlach

Prof. Dr. K. Thureau

vorgelegt über das

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. U. Lösch

DIE MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN VENA PORTAE
DES MEERSCHWEINCHENS:

EFFEKTE VON INKUBATIONSBEDINGUNGEN UND EINIGEN MIT
DEN CALCIUMIONEN INTERFERIERENDEN PHARMAKA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Hannelore Schwarz
aus
Freilassing

München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. G. Terplan
1. Referent:	Prof. Dr. U. Lösch
2. Referent:	Prof. Dr. D. Hegner
1. Korreferent:	Prof. Dr. M. Rüsse
2. Korreferent:	Prof. Dr. M. Merckenschlager
3. Korreferent:	Prof. Dr. G. Dirksen

Tag der Promotion: 26. Februar 1982



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	6
2. LITERATUR	8
2.1. DIE MORPHOLOGIE DER GLATTEN MUSKULATUR DER GEFÄSSE, SPEZIELL DER VENEN	8
2.2. DER KONTRAKTIONSMECHANISMUS DER GLATTEN MUSKULATUR	9
2.3. DIE BEEINFLUSSUNG DER SPONTANAKTIVITÄT DER ISO-LIERTEN V. PORTAE DURCH PHYSIKALISCHE FAKTOREN	14
2.3.1. Die passive Vordehnung	14
2.3.2. Die Osmolarität der Inkubationslösung	15
2.3.3. Die Inkubationstemperatur	17
2.4. DER EFFEKT VON AETHANOL AUF DIE GLATTE MUSKULATUR	18
2.5. DER EFFEKT DER INDUKTOREN KALIUMCHLORID, NORADRENALIN UND ADRENALIN AUF DIE AKTIVITÄT DER GEFÄSS-MUSKULATUR	20
2.5.1. Der Effekt der extrazellulären Kaliumionen	20
2.5.2. Der Effekt der Katecholamine und -Rezeptoren-Blocker	22
2.6. DER EFFEKT VON ACETYLCHOLIN AUF DIE GEFÄSS-MUSKULATUR	24
2.7. DIE ROLLE DER CALCIUMIONEN UND DES NATRIUM/CALCIUM-VERHÄLTNISSES BEI DER KONTRAKTION DES GLATTEN MUSKELS	26
2.7.1. Calcium	26
2.7.2. Natrium/Calcium-Interaktion	30
2.8. DIE WIRKUNG DER LOKALANAESTHETIKA UND DES ANTIARRHYTHMIKUMS TOCAINID AUF DIE GLATTE MUSKULATUR	31
2.8.1. Lokalanästhetika	31
2.8.2. Tocainid	34

2.9.	DIE WIRKUNG SPEZIFISCHER CALCIUM-ANTAGONISTEN SPEZIELL DES NIFEDIPIN AUF DIE GLATTE MUSKULATUR	35
2.10.	DIE WIRKUNG CALCIUM-SELEKTIVER IONOPHOREN AUF DIE GLATTE MUSKULATUR	39
3.	MATERIAL UND METHODIK	41
3.1.	PRÄPARATENTNAHME	41
3.2.	MESSANORDNUNG ZUR ISOMETRISCHEN KRAFTAUFNAHME	41
3.3.	LÖSUNGEN	42
3.4.	SUBSTANZEN	44
3.5.	DARSTELLUNG UND AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEB- NISSE	47
4.	ERGEBNISSE	48
4.1.	DIE ABHÄNGIGKEIT DER ISOMETRISCHEN MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN V.PORTAE DES MEER- SCHWEINCHENS VON VERSCHIEDENEN INKUBATIONSBEDIN- GUNGEN	48
4.1.1.	Die Spontanaktivität der V.portae in normaler KREBS-Lösung	48
4.1.2.	Der Effekt der Osmolarität auf die Spontanak- tivität	49
4.1.3.	Der Effekt der Inkubationstemperatur auf die Spontanaktivität	50
4.2.	DER EFFEKT VON AETHANOL AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER V. PORTAE	52
4.3.	DER EFFEKT DER INDUKTOREN KALIUMCHLORID, NOR- ADRENALIN, ADRENALIN UND ACETYLCHOLIN AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER V. PORTAE	53
4.3.1.	Der Effekt einer erhöhten Kaliumchlorid-Konzen- tration	53
4.3.2.	Der Effekt steigender Noradrenalin-Konzentra- tionen	54
4.3.3.	Der Effekt steigender Adrenalin-Konzentrationen	56
4.3.4.	Der Effekt einer α - und β -Rezeptorenblockade auf die Spontanaktivität, sowie auf die durch Norad- renalin bzw. Adrenalin induzierten Kontraktionen	57

	Seite
4.3.5. Der Effekt von Acetylcholin und Atropin	60
4.3.6. Der Effekt unterschiedlicher extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Noradrenalin bzw. Kaliumchlorid induzierten Kontraktionen	61
4.4. DIE ABHÄNGIGKEIT DER MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DER V. PORTAE VON DER EXTRAZELLULÄREN Natriumionen-Konzentration UND VOM Natrium/CALCIUM-VERHÄLTNIS IN DER INKUBATIONSLSÖSUNG	64
4.4.1. Der Effekt des isoosmotischen Ersatzes von Natrium durch Calciumchlorid auf die Spontanaktivität	64
4.4.2. Der Effekt von Natrium-freien Lösungen mit unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen auf die Spontanaktivität	65
4.4.3. Der Effekt einer Natriumchlorid-Applikation auf die in den verschiedenen Calcium-Lösungen entwickelte tonische Aktivität der V.portae	68
4.4.4. Der Effekt steigender Natriumchlorid-Konzentrationen in den verschiedenen Calcium-Lösungen auf die Spontanaktivität	71
4.5. DER EFFEKT DER LOKALANAESTHETIKA, DES TOCAINID, DES SPEZIFISCHEN CALCIUM-ANTAGONISTEN NIFEDIPIN UND DER CALCIUM-IONOPHORE A 23187 AUF DIE MECHANISCHE AKTIVITÄT DER V. PORTAE	76
4.5.1. Der Effekt der Lokalanaesthetika Mepivacain und Prilocain und des Antiarrhythmikums Tocainid auf die Spontanaktivität	76
4.5.2. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität in Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration	78
4.5.3. Der Effekt des spezifischen Calcium-Antagonisten Nifedipin und der Calcium-Ionophore A 23187 auf die Spontanaktivität	84
4.5.4. Der Effekt von Procain, Tetracain und Tocainid auf die Spontanaktivität bei Anwesenheit der Ionophore	87
4.5.5. Der Effekt von Nifedipin, Tetracain und Lidocain auf die in Natrium-freier Calcium-Lösung auftretende Spontanaktivität	89

	Seite
4.5.6. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität der V.portae in Ca-2,5- und Ca-94-Lösung	92
4.5.7. Der Effekt von Procain auf die Spontanaktivität bei Anwesenheit von Phentolamin oder Propranolol	96
4.5.8. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die induzierten Kontraktionen der V.portae	98
4.5.8.1. Der Effekt von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch Kaliumchlorid oder Noradrenalin induzierten Kontraktionen	98
4.5.8.2. Vergleich des Effektes von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen	100
4.5.8.3. Der Effekt verschiedener extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain und Tocainid	101
4.5.8.4. Vergleich des Effektes verschiedener extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain und Tocainid	104
5. DISKUSSION	108
6. ZUSAMMENFASSUNG	127
SUMMARY	129
7. LITERATURVERZEICHNIS	131

1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Als Bestandteil verschiedener Organe war die glatte Muskulatur einzelner Spezies Gegenstand zahlreicher morphologischer, physiologischer, biochemischer, pharmakologischer und klinischer Untersuchungen. Die isolierten glattemuskulären Organe der verschiedenen Spezies weisen sowohl ein typen- als auch artspezifisches Verhalten auf. Obwohl dies als Hinweis für grundlegende Unterschiede innerhalb des Gebietes der glatten Muskulatur angesehen werden müßte, wurden die bei den durchgeführten Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse häufig als allgemeingültige Charakteristika der glatten Muskulatur dargestellt.

In der vorliegenden Arbeit soll nach eingehender Besprechung der in der Literatur auffindbaren Daten das isometrische mechanische Verhalten der isolierten Portalvenenmuskulatur des Meerschweinchens in Abhängigkeit von der ionalen Zusammensetzung des Inkubationsmediums (Elektrolytkonzentration) bzw. stimulierender oder blockierender Substanzen beschrieben werden.

Das Hauptziel der Arbeit liegt in der Untersuchung der Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die isometrische mechanische Aktivität der V.portae des Meerschweinchens.

Im einzelnen geht es dabei um folgende Fragestellungen:

1. Wie unterscheiden sich die verschiedenen Lokalanaesthetika und das Tocainid bezüglich ihrer quantitativen Wirkung auf die mechanische Spontanaktivität der V.portae?
2. Inwieweit ist die Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig?
3. In welcher Form interferieren die Lokalanaesthetika und das Tocainid mit dem Aktivierungsmechanismus des spezifischen Ca-Antagonisten Nifedipin und der Ca-Ionophore A 23 187?
4. Welchen Einfluß hat eine Änderung des Na/Ca-Verhältnisses auf die Wirkung der Lokalanaesthetika, des Tocainid, des Nifedipin und der Ca-Ionophore?

5. Wie unterscheidet sich die Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Noradrenalin-induzierten Kontraktionen von der auf die KCl-induzierten?

Um diese Fragen klären zu können, wurden Voruntersuchungen über folgende Punkte durchgeführt:

Die normale isometrische mechanische Spontanaktivität der V. portae und ihre Beeinflussung durch verschiedene Bedingungen (Osmolarität, Temperatur).

Der Effekt von Aethanol, das als Lösungsvermittler verschiedener Substanzen eingesetzt wird, auf die mechanische Aktivität der V. portae.

Der Effekt der Induktoren KCl, Noradrenalin, Adrenalin und Acetylcholin auf die mechanische Aktivität der V. portae.

Die Abhängigkeit der mechanischen Spontanaktivität der V. portae von der extrazellulären Na^+ -Konzentration und vom Na/Ca-Verhältnis in der Inkubationslösung.

2. L I T E R A T U R

2.1. DIE MORPHOLOGIE DER MUSKULATUR DER GEFÄSSE, SPEZIELL DER VENEN

Untersuchungen über Aufbau und strukturelle Besonderheiten der Gefäßmuskulatur, speziell der Venen, erleichtern das Verständnis des Kontraktionsmechanismus.

Die Ultrastruktur der glatten Gefäßmuskelzelle wurde vor allem von SOMLYO aufgedeckt (206, 207, 208). Als kontraktile Proteine konnten neben Aktin- ($\varnothing$ 50-80 Å) und Myosin- ($\varnothing$ 155 Å) eine dritte Art von Filamenten ($\varnothing$ 100) nachgewiesen werden (207, 208). Die parallel angeordneten Myosinfilamente, die vom Aktin rosettenartig umgeben werden, sind weniger zahlreich, jedoch deutlich länger (V.portae, Frosch 2,2 μ m) als die der Skelettmuskulatur. Von den sogenannten dense bodies, welche die Filamente umgeben, wird angenommen, daß sie den Z-Linien der quergestreiften Muskulatur entsprechen.

Das Sarkoplasmatische Retikulum (SR), ein geschlossenes Tubulussystem, wurde in allen glattmuskulären Organen untersucht. Sein Volumenanteil variiert in den verschiedenen Präparaten; so beträgt er in Zellen der großen elastischen Arterien 5 - 7,5 %, bei einigen Spike-generierenden Muskelzellen, wie denen der V.portae des Kaninchens, 2 % (207). Das SR gilt als Hauptspeichersystem für Calciumionen und vermag mit der Membranoberfläche in Verbindung zu treten. Dabei sind die zwei Membransysteme durch einen etwa 10 nm breiten Spaltraum getrennt, der etwa alle 20 - 25 nm durch elektronenoptisch sichtbare Verbindungen überbrückt wird. An diesen Verbindungsstellen findet wahrscheinlich die elektromechanische Kopplung der Spike-generierenden Muskulatur statt (59).

Nach JOHANSSON und SOMLYO (129) besteht eine Korrelation zwischen dem Volumenanteil des SR und der Kontraktionsfähigkeit eines Präparates in Calcium-freier Lösung.

Außer im Sarkoplasmatischen Retikulum werden Calciumionen auch in den Vesikeln, den Mitochondrien und an der gesamten Zellmembran nachgewiesen (208).

Der Golgi-Apparat, der bisher in der glatten Muskelzelle nicht speziell untersucht wurde, erweckte in neuerer Zeit Interesse, da er von der Ionophore X 537 Adirekt beeinflusst zu werden scheint (210).

Wie die Untersuchungsergebnisse über die Ultrastruktur zeigen, unterscheiden sich die einzelnen Gefäße nicht nur funktionell typen- und speziesspezifisch, sondern differieren auch im Volumenanteil der Zellorganellen, die für die physiologische Funktion der glatten Muskulatur von Bedeutung und an der elektro-mechanischen Kopplung beteiligt sind (122, 207, 211).

Ein besonderes Merkmal der glatten Gefäßmuskulatur stellt der hohe Anteil an elastischen Elementen dar. Nach KÜGELGEN (145) besteht bei der V.portae des Menschen eine Relation zwischen muskulärem und elastischem Anteil von 1 : 1. Es wird angenommen, daß diese Elemente sowohl inter- als auch intrazellulär, womöglich in den kontraktile Filamenten selbst bzw. in der Zellmembran, lokalisiert sind (122). Außerdem besitzt die glatte Muskulatur im Unterschied zur Skelettmuskulatur neben kontraktile und elastischen Eigenschaften eine dritte Komponente, die Plastizität, aufgrund derer es schwer möglich ist, eine eindeutige Längen-Spannungs-Relation ähnlich wie beim Skelettmuskel aufzustellen (103, 122, 168, 174, 178, 241).

Das Charakteristikum der dem Gefäßmuskel innewohnenden Plastizität besteht darin, daß der Muskel bei seiner Dehnung eine kurzfristige Spannungszunahme entwickelt, die aber durch das plastische Nachgeben des Gewebes wieder auf oder unter den Ausgangswert absinkt (241).

2.2. DER KONTRAKTIONSMECHANISMUS DER GLATTEN MUSKULATUR

Viele glattmuskuläre Organe sind in der Lage, aus sich selbst heraus myogen-automatisch Aktivität zu entwickeln (87). So besitzt auch die isolierte V.portae des Meerschweinchens eine spontane mechanische Aktivität, die sich im Organbad unter Standardbedingungen in rhythmisch-phasischen Kontraktionen äußert.

Es lassen sich für die einzelnen glattmuskulären Organe spezifische Aktivitätsmuster aufstellen, die sich in Frequenz, Amplitudenhöhe und Basaltonus der Kontraktionen unterscheiden (12).

Dem elementaren Kontraktionsmechanismus liegt ähnlich dem der quergestreiften Muskulatur eine Phosphorylierung der L-Myosinketten, der sogenannten cross bridges, zugrunde. Bei allen Autoren besteht heute darin Übereinstimmung, daß dieser Kontraktionsvorgang von der intrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig ist. 10^{-7} bis 10^{-5} mol/l Calciumionen im Zytoplasma sind notwendig, um die Myofilamente zu aktivieren (39). Bei geringer Ca^{++} -Konzentration (kleiner als 10^{-8} mol/l) kommt es zur Aktivitätshemmung; bei 10^{-5} bis 10^{-4} mol/l zu maximalen, bei 10^{-6} mol/l zu halbmaximalen Kontraktionen (166). Für das Erreichen dieser Ca^{++} -Konzentration, die für die ATPase-Aktivierung notwendig ist, kommen im wesentlichen drei Quellen in Betracht (124, 239):

1. Ein Influx von extrazellulären Calciumionen durch die Zellmembran bzw. das Freiwerden von membrangebundenen Calciumionen
2. Eine Ca^{++} -Freisetzung aus dem SR
3. Eine Ca^{++} -Freisetzung aus den Mitochondrien und anderen Zellorganellen

Die letztgenannte Möglichkeit ist von geringer Bedeutung, da die Affinität der Mitochondrien zu Calciumionen nicht groß zu sein scheint (124). Die oben genannten Calcium-Kompartimente werden von einigen Autoren noch nach einzelnen Lokalisationspunkten und nach ihrer Bindungsstärke für Calciumionen unterteilt (39, 116, 201, 239). V.BREEMEN et al. (39) postulieren zwei separate zelluläre Fraktionen: Eine nahe der Zelloberfläche, von wo aus Agonisten Calciumionen freisetzen. Diese Fraktion wird von Calciumionen, die an der Membranaußenseite gebunden sind, aufgefüllt. Die zweite Fraktion stellt das SR dar; es nimmt während der Relaxation Calciumionen aus dem Zytoplasma auf.

WEISS (234) konnte bei Untersuchungen der intrazellulären Bin-

dungsstellen verschiedene Affinitäten zu Sr^{++} und La^{+++} feststellen. Da ein alleiniger Ca^{++} -Influx aus dem Extrazellulärraum (EZR) nicht ausreichen würde, um die regulierenden Proteine abzusättigen, wird angenommen, daß es zu einer weiteren Ca^{++} -Freisetzung aus intrazellulären Speichern kommt (129). Eine geringfügige Erhöhung der intrazellulären Ca^{++} -Konzentration wirkt offensichtlich als Trigger für diese Freisetzung.

Erster und wichtigster Mechanismus, durch den in spontan aktiven glattemuskulären Organen ein intrazellulärer Ca^{++} -Anstieg hervorgerufen wird, ist das Aktionspotential (AP).

Durch ungleiche Ionenverteilung zwischen dem Intrazellulär- und Extrazellulärraum, die durch unterschiedliche Ionenpermeabilität und eine Na-K-Pumpe aufrechterhalten wird, besteht an der Zellmembran eine elektrische Potentialdifferenz (Membranpotential, MP). Mit Hilfe intrazellulärer Potentialmessungen konnte gezeigt werden, daß das MP der spontan aktiven Muskeln Schwankungen bezüglich der Amplitude, Dauer und Rhythmizität unterliegt (91). Glatte Muskeln unterscheiden sich wesentlich voneinander in der Ausprägung und Charakteristik solcher rhythmischen MP-Schwankungen, der durch sie getriggerten AP-Entladungen und der dadurch induzierten Kontraktionen. Die Bandbreite erstreckt sich dabei vom nicht aktiven glatten Muskel mit stabilem MP und ohne spontan generierten Aktionspotentialen (z.B. Aorta) bis zum spontan aktiven Gefäßmuskel aus dem Mesenterialvenen- und Arteriolenbereich, bei dem Membrandepolarisationen verschiedener Amplitude, Frequenz und mit unterschiedlichem Zeitverlauf zu differenzieren sind. Ein gut untersuchter Prototyp für diese Art eines spontan aktiven Gefäßmuskels ist die V. portae. Ihr Aktivitätsmuster ist geprägt durch vier sich überlagernde Rhythmen (91):

1. Minutenrhythmus (MR); er besitzt eine Frequenz von 0,5 - 2/min und geht mit geringen Schwankungen des basalen Membranpotentials einher.
2. Basaler organeigener Rhythmus (BOR); er untergliedert die Minuten in rhythmische Aktivitätsphasen und ist mit Po-

tentialschwankungen von 10 - 30 mV verbunden. Die Frequenz des BOR liegt zwischen 5 und 10/min.

3. Schnelle Oszillationen des Membranpotentials im Sekundenrhythmus; sie überlagern die Depolarisationsphasen des BOR.

(1 - 3 werden allgemein als "slow waves" zusammengefaßt)

4. Spikes mit Amplituden von 40 - 60 mV, die vom Sekundenrhythmus getriggert werden.

Bei den Spikes (Aktionspotentiale, AP) handelt es sich um impulshafte Depolarisationen, welche die Ca^{++} -Freisetzung auslösen (87).

Bei den spontan aktiven glattmuskulären Organen wird das AP von Zelle zu Zelle propagiert ("single unit"-Typ; 32) und geht mit einer Änderung der mechanischen Aktivität einher (elektro-mechanische Kopplung; 121).

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Aktionspotentiale (1-2 cm/s) bei der V.portae ist ausreichend, eine relativ gut synchronisierte Kontraktion der betroffenen Muskelzellen auszulösen, die sich in einer kurzen phasischen Kontraktion des isolierten Präparates äußert.

Elektrophysiologisch liegt der phasischen Komponente der Kontraktion eine Phase der Spike-Aktivität zugrunde, auf die eine Erschlaffung und Einstellung des Basaltonus als Phase ohne Spike-Entladung folgt, in der die Membran repolarisiert ist (91).

Da es sich bei der Kontraktion der glatten Muskulatur der V. portae letztlich um eine Veränderung des Membranpotentials handelt, ist verständlich, daß depolarisierend wirkende Substanzen über eine Erhöhung der AP-Frequenz kontraktionsfördernd, wogegen hyperpolarisierende Substanzen durch Hemmung der AP-Frequenz relaxierend wirken.

Ebenso induzieren eine Dehnung des Präparates, eine Änderung der Inkubationstemperatur und der Ionenzusammensetzung im In-

kubationsmedium über eine De- bzw. Hyperpolarisation der Membran eine Förderung bzw. Hemmung der Spike-Generation und damit auch der mechanischen Aktivität.

Man hat einen "potential sensitive calcium channel" postuliert als einen Ionenkanal, der sich bei reduziertem MP öffnet und in Zellen, die ein AP generieren, für den Aufstrich des Aktionspotentials verantwortlich ist (28). Darüber hinaus gibt es aber auch besonders im Bereich der nicht spontan aktiven glatten Muskulatur Wirkungsmechanismen bestimmter Pharmaka, die durch das Fehlen von sichtbaren Änderungen elektrischer Parameter gekennzeichnet sind und dennoch die Kontraktilität verändern. Man hat daher als zweiten Typ den "receptor operated channel" (ROC) postuliert als einen Ionenkanal, der durch einen Rezeptor für stimulierende Substanzen reguliert oder geöffnet wird (pharmako-mechanische Kopplung; 209).

Damit der phasischen Spike-Generation und somit der Kontraktion eine rasche Relaxation folgen kann, muß das intrazelluläre Calcium schnell wieder abnehmen. Dies könnte über ein Na-Ca-Austauschsystem geschehen, und zwar mit Hilfe eines Membran-Carriers, der die Energie des passiven Na^+ -Einstroms nutzt, um die Calciumionen in die entgegengesetzte Richtung zu transportieren (184); d.h. das intrazelluläre Calcium wäre vom Na^+ -Gradienten abhängig.

V.BREEMEN et al. (39) nehmen einen metabolischen ATP-abhängigen Transport in das Sarkoplasmatische Retikulum als wahrscheinlicheren Mechanismus an.

Nach HARTSHORN (101) spaltet eine Phosphatase die Phosphatgruppen von den L-Myosinketten, so daß es zur Dissoziation des Aktin-Myosin-Komplexes kommt.

Man stimmt heute darin überein, daß dem Anstieg von cyclo-AMP im Gewebe eine zentrale Bedeutung bei der Muskelrelaxation zukommt (102, 204).

2.3. DIE BEEINFLUSSUNG DER SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN V.PORTAE DURCH PHYSIKALISCHE FAKTOREN

2.3.1. Die passive Vordehnung

Es wurde bereits darauf hingewiesen (S. 12 unten), daß es durch passive Dehnung der V.portae des Meerschweinchens zu einer Änderung der mechanischen und elektrischen Aktivität kommt.

Dieses Phänomen, das dem "single unit"-Typ des glatten Muskels eigen ist, wurde von vielen Autoren untersucht (122, 123, 128, 130, 193, 212).

Mit Hilfe der extrazellulären Ableittechnik wurde gezeigt, daß eine Dehnung der V.portae weniger eine Frequenzzunahme der spontanen phasischen Kontraktionen, als eine zeitliche Verlängerung der Bursts zur Folge hat (122, 200). So kommt es zu einer Erhöhung der Spike-Aktivität pro Burst auf Kosten der aktivitätsfreien Intervalle. Die Frequenz der Bursts und damit der phasischen Kontraktionen bleibt auf diese Weise relativ konstant.

Eine sukzessive Verstärkung der passiven Dehnung steigert die aktive Kontraktionsantwort, d.h. die Kraftentwicklung und die Spike-Aktivität, bis ein steady state erreicht ist, wonach keine weitere Aktivitätserhöhung mehr möglich ist (241).

In der Arbeit von ZINNHOBLE (241) konnte eine enge Korrelation zwischen der gewählten passiven Vordehnung der isolierten V.portae des Meerschweinchens und der isometrischen mechanischen Kraftentwicklung aufgezeigt werden.

SPARKS (212) stellte fest, daß die durch Dehnung hervorgerufene Aktivität durch Zugabe von Adrenalin (10^{-6} g/l) oder KCl (15 mmol/l) verstärkt und durch Zugabe von Mg^{++} (20 mmol/l) oder Ca^{++} (8 mmol/l) reduziert werden kann.

2.3.2. Die Osmolarität der Inkubationslösung

Im Hinblick darauf, daß die Osmolarität bei der Regulierung des Gefäßtonus in vivo eine bedeutende Rolle spielt (155, 162), wurden in vielen Arbeiten der letzten Jahre die Effekte einer Osmolaritätsänderung auf die isolierte Gefäßmuskulatur studiert.

Von den spontan aktiven Gefäßen diente häufig die V.portae der Ratte als Untersuchungsobjekt (6, 97, 126, 127, 161).

- In Lösungen mit stark erhöhter Osmolarität (690 mosmol/l), bedingt durch Saccharose-Zusatz, erlischt die elektrische und mechanische Aktivität der V.portae der Ratte, und die Erregungsausbreitung von der V.portae zur V.mesenterica wird unterbrochen (127).
- Eine weniger starke Osmolaritätserhöhung (um 20 - 100 mosmol/l) hat lediglich eine Einschränkung der elektrischen und mechanischen Aktivität zur Folge (126).
- Neuere Untersuchungen an der Ratten-Portalvene zeigen, daß eine länger als 5 Minuten anhaltende Osmolaritätserhöhung von 40 - 80 mosmol/l eine recht komplexe Kontraktionsantwort hervorruft (6, 161): Innerhalb der ersten 5 Minuten kommt es zu einer Frequenz- und Amplitudenabnahme der spontanen Kontraktionen (6, 7); während die reduzierte Frequenz in hypertonischer Lösung 30 Minuten lang bestehen bleibt, übersteigen die Kontraktionsamplituden nach 5 Minuten den Kontrollwert (6). Eine schrittweise Erhöhung der Osmolarität in 10minütigem Abstand ruft eine Frequenzreduktion und Amplitudenzunahme ohne vorhergehende Amplitudenerniedrigung hervor (6).
- Eine starke Osmolaritätserhöhung auf etwa das Doppelte der Norm hat das völlige Sistieren der phasischen Aktivität zur Folge, wobei es gleichzeitig zur Induktion einer tonischen Spannungskomponente kommt (6, 97, 161). Dabei ist extrazelluläres Calcium offensichtlich nicht erforderlich, um diese tonische Spannung aufrechtzuerhalten, da sie durch Inkubation in Ca-freiem Medium nicht gehemmt wird (6). Da der To-

nus jedoch abnimmt, wenn die Energiequellen dem Organbad entzogen werden, nehmen ANDERSSON et al. (6) an, daß es sich um eine aktive Antwort handelt. Diese Annahme wird dadurch bestätigt, daß eine Temperaturerniedrigung, wie auch Hypoxie und Glucoseentzug, eine Abnahme dieser tonischen Kontraktion hervorrufen. Eine α -Blockade zeigt ebenso wie Ca-Freiheit keinen Einfluß.

JONSSON (134) zählt fünf mögliche Mechanismen auf, über die eine Osmolaritätserhöhung auf die Gefäßmuskulatur einwirken kann:

1. Eine Veränderung des Kalium-Gradienten (133): Hypertone Lösungen bedingen eine Abnahme des Zellvolumens und eine Erhöhung der intrazellulären K^+ -Konzentration (100), woraus eine Membranhyperpolarisation und Abnahme der mechanischen und elektrischen Aktivität folgt. Dieser Effekt hält nur vorübergehend an, da das intrazelluläre Kalium nach einiger Zeit auf den ursprünglichen Wert zurückgeht (100). Daß die Veränderung des K^+ -Konzentrationsgefälles nicht allein für den Effekt der Hyperosmolarität verantwortlich ist, konnte von JOHANSSON et al. (126) und JONSSON (132) gezeigt werden.
2. Eine unterschiedlich starke Veränderung der Permeabilität der Zellmembran (120): Untersuchungen mit Hilfe der Tracer-Technik lassen vermuten, daß in hypotonen Lösungen das Verhältnis der Na^+ - zur K^+ -Permeabilität vergrößert ist (135).
3. Eine Reduktion der intrazellulären Erregungsausbreitung, von der angenommen wird, daß sie durch eine Unterbrechung der Zellnexus zustande kommt (97, 127).
4. Eine Hemmung der elektro-mechanischen Kopplung, die durch die eben aufgeführte Unterbrechung der Zellnexus bedingt ist (127).
5. Eine Hemmung der Aktivität der Aktomyosin-ATPase durch die wachsende Ionenstärke (159), d.h., daß eine intrazelluläre Osmolaritätssteigerung die kontraktile Proteine direkt beeinflussen kann.

Hypertone Lösungen wirken anscheinend weder über eine Erhöhung von cyclo-AMP (151) noch über Sulfhydryl-Gruppen (144).

2.3.3. Die Inkubationstemperatur

Ein weiterer physikalischer Faktor, durch den die Spontanaktivität der isolierten Gefäßmuskulatur beeinflusst wird, ist die Temperatur des Inkubationsmediums. Die Erwärmung spontan aktiver Pfortader- und Mesenterialvenen-Präparate verschiedener Spezies von 37 auf 40° C hat eine Frequenzerhöhung der phasischen Aktivität, eine Abkühlung auf 30° C den gegenteiligen Effekt, evtl. sogar ein Erlöschen der Spontanaktivität zur Folge (31, 78, 111, 172, 227, 229, 235). In ähnlicher Weise wird auch die mechanische Aktivität nicht-vaskulärer spontan aktiver glattmuskulärer Organe durch eine Temperaturveränderung beeinflusst (34, 43, 149).

Die glatte Muskulatur der Gefäße reagiert bei sehr niedriger Temperatur (10° und darunter) weder auf vasokonstringierende noch auf vasodilatierende Agentien (83, 105, 139, 140, 230). Dabei werden die kontraktilen Proteine selbst innerhalb eines Temperaturbereichs von 10 - 45° C wenig beeinflusst (26). Einige enzymatische Reaktionen zeigen jedoch deutliche Temperaturabhängigkeit, so die Aktomyosin-ATPase, wie auch die Na-K-ATPase.

Bekanntlich wird durch eine Temperatursenkung der gesamte Zellmetabolismus herabgesetzt. Dies gilt auch speziell für den Calcium-Metabolismus: Der Influx von extrazellulären Calciumionen erfolgt hauptsächlich über einen physikalischen Diffusionsprozeß entlang eines Ionenkonzentrationsgradienten. Ein Temperaturwechsel beeinflusst den Diffusionsprozeß wahrscheinlich indirekt durch Veränderung der Permeabilitätseigenschaften der Zellmembran. Im Gegensatz dazu ist die Calcium-Freisetzung aus intrazellulären Speichern, ebenso wie die Calcium-Extrusion gegen einen hohen Konzentrationsgradienten ein metabolischer energiezehrender Prozeß. Geht man davon aus, daß eine Temperaturerniedrigung oder -erhöhung einen Einfluß auf die Calciumionen bei der elektro-mechanischen Kopplung ausübt,

so ist die Annahme naheliegend, daß die Temperatur direkt die aktive Mobilisation von Calcium in das oder aus dem Sarkoplasma beeinflußt (27).

Bei der Ratten-Aorta ist die Freisetzung von zellulär gebundenem Calcium durch Noradrenalin an einen Energie-abhängigen Prozeß gekoppelt, der durch Kühlung unterdrückt wird (175). Diese Tatsache könnte eine Erklärung dafür sein, daß die Kontraktionsantwort auf Noradrenalin bei mäßiger Abkühlung stärker gehemmt wird, als in depolarisierend wirkenden Lösungen (175). Andererseits jedoch unterdrückt eine mäßige Temperaturerniedrigung die langsame (tonische) Komponente der Kontraktionsantwort auf Katecholamine stärker als die schnelle (phasische; 85). Von der phasischen Komponente wird angenommen, daß sie durch intrazelluläre Ca-Freisetzung zustande kommt, während die tonische hauptsächlich einen Ca^{++} -Influx aus dem Extrazellulärraum darstellt (57, 85, 202). Folglich scheint sich hier eine Temperaturerniedrigung mehr auf eine Permeabilitäts-änderung als auf die zelluläre Ca-Freisetzung auszuwirken.

2.4. DER EFFEKT VON AETHANOL AUF DIE GLATTE MUSKULATUR

Die Wirkung von Aethanol auf die glatte Muskulatur ist im Gegensatz zu der auf das zentrale und periphere Nervensystem relativ wenig erforscht.

EDGARIAN et al. (65) zeigten am Beispiel der Ratten-Pfortader, daß Aethanol auf die Kontraktionsfähigkeit der glatten Muskulatur sowohl fördernde als auch hemmende Wirkungen ausübt, die nicht an eine Katecholamin- Histamin-, Acetylcholin- oder Serotoninfreisetzung gebunden sind:

- Niedrige Aethanol-Konzentrationen (17 mmol/l) führen zu einer leichten Reduktion der mechanischen Spontanaktivität der isolierten V. portae der Ratte.
- Niedrige Aethanol-Konzentrationen verstärken jedoch die durch Adrenalin induzierten Kontraktionen auch bei Arterien (64, 172), nicht dagegen die durch Angiotensin oder Kalium induzierten.

- Höhere Aethanol-Konzentrationen, wie sie bei der Oberflächenanästhesie anzutreffen sind (100 - 170 mmol/l), bewirken meist eine vollständige Unterdrückung der Spontanaktivität (65).

Für diese höheren Konzentrationen gilt:

- 1) Sie schwächen die durch Adrenalin, Angiotensin und Kalium induzierten Kontraktionen ab.
- 2) Sie bewirken eine nicht-kompetitive Verschiebung der Dosis-Wirkungskurven für diese vasoaktiven Verbindungen.
- 3) Sie schwächen die Calcium-induzierten Kontraktionen der durch Kalium depolarisierten Portalvenen ab.
- 4) Sie haben auf Pharmaka- und Calcium-induzierte Kontraktionen der V.portae einen hemmenden Einfluß (65).

Wenn auch geringer Alkoholgenuß ($< 0,5$ g/kg) nicht unbedingt eine periphere Vasodilatation zur Folge hat, so bewirken größere Alkoholmengen ($> 0,5$ g/kg) gewöhnlich eine solche Dilatation. Sie wurde bisher hauptsächlich auf einen Effekt des zentralen und peripheren Nervensystems zurückgeführt.

Aus den Ergebnissen von EDGARIAN et al. (65) kann man jedoch einen direkten Einfluß des Alkohols auf die glatte Muskulatur der Gefäße annehmen. Mindestens zwei Gefäßmechanismen könnten zur Aethanol-bedingten Vasodilatation führen:

- a) die Hemmung der Normalrhythmik (= Spontanaktivität)
- b) die Hemmung des kontraktile Effektes von endogenen neurohumoralen Substanzen, von denen man annimmt, daß sie bei der Aufrechterhaltung des Gefäßtonus eine Rolle spielen.

Das Ergebnis, daß Aethanol dosisabhängig die durch KCl und CaCl_2 induzierten Kontraktionen der V.portae hemmt, läßt vermuten, daß dieser Alkohol direkt wirkt, indem er die Verfügbarkeit der Calciumionen entweder für den kontraktile Apparat oder an bzw. unter der Zellmembran vermindert. Deshalb zeigen die Calcium-induzierten Kontraktionen die stärkste Beeinflußbarkeit durch Aethanol (65).

PUSZKIN und RUBIN (180) stellten fest, daß Aethanol den Ca^{++} -Transport zu den isolierten Membranfraktionen des SR hemmt.

HURWITZ et al. (115) schließen aus ihren Ergebnissen, die sie bei Untersuchungen des Meerschweinchen-Ileums gewannen, daß Aethanol als indirekter Ca-Antagonist wirken müsse, da die tonusunterdrückende Wirkung von Aethanol durch hohe extrazelluläre Ca^{++} -Konzentrationen aufgehoben werden kann.

Die durch Aethanol induzierten Permeabilitätsänderungen sind nach HURWITZ et al. (115) anderer Natur als die durch Lokalanästhetika hervorgerufenen.

2.5. DER EFFEKT DER INDUKTOREN KALIUMCHLORID, NORADRENALIN UND ADRENALIN AUF DIE AKTIVITÄT DER GLATTEN MUSKULATUR

2.5.1. Der Effekt der extrazellulären Kaliumionen

Eine Erhöhung der K^{+} -Konzentration im EZR löst bei einigen isolierten Blutgefäßen, wie menschlichen Umbilikalarterien und -venen (4), der Kaninchen-Aorta (17) und Kaninchen-Koronararterien (194) eine Kontraktion aus, die anfangs einen Spannungs-Peak aufweist, um dann auf ein relativ gleichbleibendes Niveau abzufallen.

Diese zwei-phasige Kontraktion wurde bei der V.portae von GÖLLENHOFEN und HERMSTEIN (88), sowie von GABELLA (81) beschrieben. Der Anfangs-Peak wird als phasische, das gleichbleibende Spannungs-Niveau als tonische Komponente der K^{+} -induzierten Kontraktion bezeichnet. Im Fall der V.portae übersteigt die tonische Komponente die phasische (81,88). Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß bei den oben genannten Untersuchungen NaCl ganz oder teilweise durch KCl isoosmotisch in der Inkubationslösung ersetzt wurde.

Der Mechanismus, der den K^{+} -induzierten Kontraktionen zugrunde liegt, läßt sich auf folgende Faktoren zurückführen:

Es kommt zu einer Reduktion des Membranpotentials (19, 85,201), die direkt aus der Erhöhung der extrazellulären K^{+} -Konzentration resultiert. Mit dieser Membrandepolarisation interferiert

die durch die Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration induzierte Stimulierung des Na-K-Transportsystems, das bei der Spike-aktiven V.portae zum Aufbau des Membranpotentials beiträgt (148). Außerdem führt eine Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration zu einer Förderung der Membranpermeabilität für Kationen. So konnte nach Applikation Kalium-reicher Lösung von vielen Autoren ein vermehrter Ca^{++} -Influx in die Muskelzellen verschiedener glattmuskulärer Organe, so auch der V.portae, festgestellt werden (40, 45, 51, 160, 213, 226). Auch diese Ergebnisse wurden teilweise unter Bedingungen eines aequimolaren Ersatzes von NaCl durch KCl gewonnen.

Von einigen Autoren wird außerdem ein indirekter Mechanismus beschrieben, demzufolge eine Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration eine Abnahme der Noradrenalin-Freisetzung in isolierten Arterien und Venen bewirken kann (29, 30, 154).

Elektrophysiologische Untersuchungen an Ratten-Portalvenen ergaben, daß es nach Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration zu einer kurzfristigen Reduzierung der Spike-Aktivität und Relaxation des Präparates kommt; darauf folgt eine Membrandepolarisation mit Anwachsen des Spike-Potentials und Verstärkung der Kontraktionskraft (10, 104).

In Lösungen mit reduzierter K^+ -Konzentration tritt anfangs eine Zunahme der Spike-Aktivität auf, die von einer Membranhyperpolarisation und verminderter Spannungsentwicklung gefolgt wird (10).

Da es sich bei der K^+ -induzierten Kontraktion um ein sehr komplexes Geschehen handelt, ist schließlich das Ausmaß der Erhöhung der extrazellulären K^+ -Konzentration ausschlaggebend, ob der depolarisierende Effekt die mit ihm konkurrierenden Relaxations-Mechanismen übertrifft. Dies ist bei einer Konzentration von über 20 mmol/l K^+ im Extrazellulärraum sowohl in vitro (isolierte Arterien; 35) als auch in vivo (5) der Fall.

2.5.2. Der Effekt der Katecholamine und -Rezeptoren-Blocker

Katecholamine wirken auf die glatte Muskulatur über Rezeptoren, die sich in zwei Grundtypen unterteilen lassen: Eine Stimulierung der α -Rezeptoren der Gefäßmuskulatur hat im allgemeinen eine Kontraktion (Vasokonstriktion), eine Stimulierung der β -Rezeptoren eine Relaxation (Vasodilatation) zur Folge. Diese Klassifizierung beruht auf der Tatsache, daß eine Reihe von Agonisten in verschiedenen Geweben unterschiedlich starke Effekte hervorrufen (3). So wird der α -Rezeptor in abnehmender Stärke von folgenden Substanzen angesprochen: Adrenalin > Noradrenalin > Phenylepinephrin > Isoproterenol. Für den β -adrenergen Rezeptor sieht die Reihenfolge so aus: Isoproterenol > Adrenalin > Noradrenalin > Phenylepinephrin. Noradrenalin und Adrenalin zeichnen sich also durch eine hohe Affinität zum α -Rezeptor aus.

Die Unterteilung der adrenergen Rezeptoren erhielt ihre Berechtigung auch durch die Entwicklung von Agentien, die eine spezifische Blockade des einen oder des anderen Rezeptors ausüben können.

In der V. portae überwiegen die α -Rezeptoren, und es kommt nach Applikation von Katecholaminen zu einer Kontraktion, die durch Phentolamin oder Phenoxybenzamin aufgehoben werden kann (152).

Bei den meisten Arterien und Venen liegt die ED_{50} für Noradrenalin zwischen 10^{-8} und 10^{-7} mol/l (16, 199, 218). Die Schwellenkonzentration für α -adrenerge Effekte in großen Arterien und Venen liegt zwischen 10^{-9} und 10^{-8} mol/l (15, 96).

Die durch Noradrenalin induzierten Gefäßkontraktionen bestehen aus einer schnellen phasischen und einer langen tonischen Komponente. Die Mechanismen, die nach Aktivierung der α -Rezeptoren zu dieser Kontraktion des glatten Muskels führen, sind von Gefäßtyp zu Gefäßtyp verschieden.

Einige Autoren (48, 49, 50, 62) haben festgestellt, daß die Noradrenalin-induzierte Kontraktion bei der Pulmonalarterie und bei der Ohrarterie des Kaninchens nicht mit einer Membrandepo-

larisation einhergeht (pharmako-mechanische Kopplung).

Dagegen wurde bei der V.portae nach Noradrenalin-Applikation eine anhaltende Membrandepolarisation mit erhöhter Entladungsfrequenz und Zunahme von Aktionspotentialen beobachtet (elektro-mechanische Kopplung; 54, 88, 89, 111, 125, 152).

JOHANSSON und LJUNG (127) konnten am Longitudinalmuskel der V.portae zeigen, daß es nach sympathischer Stimulation zu einer raschen Verstärkung der phasischen Kontraktionen aufgrund erhöhter Schrittmacheraktivität kommt.

Bei der Kaninchen-Aorta wird die erste phasische Komponente der durch Adrenalin induzierten Kontraktion durch eine Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration unterdrückt, die zweite tonische verstärkt. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß der "rate-limiting-factor" bei der phasischen Komponente die Membranerregbarkeit darstellt (die durch Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration unterdrückt wird), während er bei der tonischen Komponente vom Ca^{++} -Influx abhängt (der mit der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration zunimmt; 57, 58).

AXELSSON et al. (9) finden in ihren elektrophysiologischen Untersuchungen, daß das Aktivitätsmuster der Ratten-Portalvene nach längerem Noradrenalin-Einfluß mit dem Effekt, den eine Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration nach sich zieht, vergleichbar ist. Eine 30minütige Inkubation der V.portae in Noradrenalin-haltiger Lösung (6×10^{-6} mol/l) bewirkt einen signifikanten Calcium-Anstieg im Gewebe (von 4,1 mmol/kg Feuchtwicht auf 6,4 mmol), während der Chlorid-Gehalt signifikant erniedrigt ist (von 86 mmol/kg Feuchtwicht auf 79 mmol; 231, 233).

Auch GODFRAIND (84) stellt an der Ratten-Aorta eine erhöhte Ca-Aufnahme in die Zelle nach Noradrenalin-Applikation fest. Dieser Aufnahme-Zuwachs ist dosisabhängig; bei 2×10^{-8} mol/l Noradrenalin ist eine halbmaximale Kontraktionsantwort erreicht. Bei Phentolamin-Gegenwart ist die Dosis-Wirkungskurve für Noradrenalin auf die $^{45}\text{Ca}^{++}$ -Aufnahme in einer für den kompetitiven Antagonismus charakteristischen Weise verschoben.

WAHLSTRÖM (231), der die ionale Beeinflussung durch Noradrenalin bei der V.portae der Ratte untersuchte, stellte fest, daß die Na^+ - und K^+ -Konzentrationen durch Noradrenalin nicht beeinflusst werden, daß es aber zu einer geringen Zunahme des K^+ -Efflux und zu einer Verstärkung des Cl^- -Efflux kommt. Während sich das Ausmaß des K^+ -Efflux durch Erhöhung der Noradrenalin-Konzentration nicht weiter steigern läßt, ist dies beim Cl^- -Efflux sehr wohl möglich. Phenoxybenzamin stoppt die durch Noradrenalin hervorgerufene Erhöhung des $^{42}\text{K}^+$ - und $^{36}\text{Cl}^-$ -Efflux, während Propranolol in äquimolarer Konzentration wie Phenoxybenzamin und Noradrenalin keinen Einfluß ausübt.

WAHLSTRÖM et al. (233) stellten umgekehrt, ebenfalls an der Ratten-Portalvene, Untersuchungen an, in denen sie den Einfluß verschiedener Ionen auf die Noradrenalin-Wirkung studierten. Dabei zeigt sich, daß in K^+ -depolarisierender Lösung die Kontraktionsantwort auf Noradrenalin allmählich abnimmt, obwohl auch bei hoher K^+ -Konzentration 15 % des Noradrenalin-Effektes bestehen bleiben. Aus diesen Untersuchungsergebnissen schließen WAHLSTRÖM und seine Mitarbeiter, daß die Anionenverteilung und -Permeabilitätsrate auf den exzitatorischen Effekt von Noradrenalin bei der V.portae der Ratte einen sehr großen Einfluß ausüben (233).

2.6. DER EFFEKT VON ACETYLCHOLIN AUF DIE GEFÄSSMUSKULATUR

Daß Acetylcholin (ACh), das von cholinergen Nerven freigesetzt wird, auf neurogene Art die Blutgefäße kontrolliert, ist durch viele Untersuchungen sichergestellt. Es bestehen jedoch regionale Unterschiede, was die Verteilung dieser Nerven in den einzelnen Gefäßen betrifft.

An den GEFÄßEN DES HERZENS wurde gezeigt, daß ACh bei Katze (236), Hund (63, 106, 138) und Kaninchen (203) dilatierende Wirkung hat, obwohl bei der isolierten Koronararterie des Kaninchens von einem kontrahierenden ACh-Effekt berichtet wurde (82).

Über die Versorgung der GEFÄSSE DER SKELETTMUSKULATUR mit cholinergen Nerven wurde ausführlich von HUDLICKA (114) berichtet. Hier gibt es zwei Arten der Vasodilatation: eine, die von sympathischen cholinergen Nerven übermittelt wird, und eine, die diese Nerven nicht einzubeziehen scheint, da sie bei Atropin-Anwesenheit sowie nach Sympathektomie bestehen bleibt (14, 42, 92, 107, 214, 240).

Am ARTERIENMUSKEL der Taube (186), des Kaninchens (217) und des Schafes (141), sowie an der VENENMUSKULATUR des Meerschweinchens (171) und der Ratte (77) wurde beobachtet, daß ACh Kontraktionen auslöst, die mit AP-Generierung und Depolarisation einhergehen.

Die Vasokonstriktion eines bestimmten Gefäßtyps, z.B. der Kaninchen-Aorta, durch cholinerge Agentien folgt aus einer direkten Wirkung der Drogen auf die glatte Muskulatur (18).

Untersuchungen an verschiedenen Gefäßen, so der isolierten Kaninchen-Pulmonalarterie (18) und Skelettmuskel-Gefäßen (61), geben keine Anhaltspunkte dafür, daß bei der adrenergen Übermittlung ein cholinerges Schritt notwendig sei.

Bei der Interpretation von Versuchsergebnissen mit blockierenden Agentien, wie Dibenamin, sollte man Vorsicht walten lassen, denn Dibenamin vermag sowohl den Muskarin- wie auch den α -Rezeptor zu besetzen und scheint die Ca^{++} -Permeabilität, die von Gefäß zu Gefäß verschieden ist, zu beeinflussen (80).

Die elektrophysiologischen Effekte von ACh wurden mittels intrazellulärer Potentialmessung von FUNAKI und BOHR (78) an der V. portae der Ratte und von NAKAJIMA und HORN (171) an der V. mesenterica superior des Meerschweinchens erfaßt. Beide Autorengruppen haben gelegentlich biphasische Reaktionen im Sinne einer vorausgehenden Hyperpolarisation und nachfolgender Depolarisation beobachtet.

V. LOH (153), der ebenfalls intrazelluläre Potentialmessungen an der V.portae des Meerschweinchens vorgenommen hat, konnte keine derartige Reaktion feststellen. Bei der V.portae des Meerschweinchens bewirkt ACh eine Verstärkung der Spontanaktivität, was sich in einer Abnahme des Membranpotentials, einer Erhöhung der Spike-Frequenz und in einem Spannungsanstieg äußert (153). Adrenerge blockierende Substanzen wie Phentolamin hatten auf die ACh-Wirkung keinen Einfluß, während Atropin den ACh-Effekt zu verringern oder ganz aufzuheben vermochte (153).

Aus diesen Befunden schließt v.LOH (153), daß ACh direkt an der glatten Muskulatur der Portalvene des Meerschweinchens angreift.

BURNSTOCK et al. (44) führen die exzitatorische Wirkung von ACh auf eine wahrscheinliche Ionenkonzentrationsänderung vor allem für Na^+ und K^+ zurück, die zur Membrandepolarisation führen könnte.

2.7. DIE ROLLE DER CALCIUMIONEN UND DES NATRIUM/CALCIUM-VERHÄLTNISSES BEI DER KONTRAKTION DER GLATTEN MUSKULATUR

2.7.1. Calcium

Die Kraftentwicklung des glatten Muskels wird, wie bereits erwähnt (S. 10 oben), direkt durch die Konzentration der freien Calciumionen im Zytoplasma reguliert.

Diesen Einfluß der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf die elektrische und mechanische Aktivität der V.portae der Ratte untersuchten AXELSSON et al. (10) mittels der Saccharose-Trennwand-Methode:

- Eine Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf 5 mmol/l hatte eine geringfügige Hyperpolarisation und eine Verlängerung der Burst-freien Intervalle (bis 50 %) zur Folge. Die Burst-Dauer war nahezu doppelt so lang wie in normaler KREBS-Lösung; die Kontraktionsamplituden nahmen um 30 - 40 % zu. 10-20 Minuten nach Reinkubation in normale KREBS-Lösung glich das Aktivitätsmuster dem ursprünglichen.

- Eine Verminderung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf 0,5 mmol/l bewirkte eine Depolarisation und Verkürzung der Burst-Intervalle und Burst-Dauer. Die Spike- und Kontraktionsamplituden nahmen um mehr als 90 % ab. Die Spontanaktivität beschränkte sich bei dieser Calcium-Konzentration auf einzelne Spikes, die mit schwachen Kontraktionen einhergingen.
- In Ca-freier Lösung zeigte sich nach 5 Minuten ein Aktivitätsmuster, das dem eben beschriebenen glich. Nach 10 - 15 Minuten kam es zum völligen Sistieren der elektrischen und mechanischen Aktivität.

SIGURDSSON et al. (201), die ebenfalls Saccharose-Trennwand-Untersuchungen an der Ratten-Portalvene vornahmen, beobachteten dieses Sistieren bereits nach 1 - 2 Minuten.

Auch BIAMINO und JOHANSSON (19) stellen eine vollständige Erschlaffung der V.portae in nominell Ca-freier KREBS-Lösung fest.

Die rasche Abnahme der Kraftentwicklung der V.portae in Ca-freiem Medium ist nach PEIPER et al. (174) auf eine Verminderung von freien Calcium-Ionen im Zytoplasma zurückzuführen, da die intrazellulären Ca-Speicher - SR, Mitochondrien und Vesikel der Zellmembran - bei der V.portae nur schwach entwickelt sind (21, 59).

Die Plasma-Konzentration an freien Calciumionen ist für die Aktivierung der ATPase im glatten Muskel ebenso von Bedeutung wie im Skelett- und im Herzmuskel (27, 169, 190, 192).

Im Gegensatz zur V.portae scheint bei der Aorta extrazelluläres Calcium nicht für eine Aktivierung durch Noradrenalin notwendig zu sein, da es bei ihr auch in Ca-freiem Medium zu Kontraktionen kommt (33, 219).

Die völlige Abhängigkeit der V.portae vom extrazellulären Calcium für die mechanische Kraftentwicklung wurde auch von COLLINS et al. (52) beschrieben und von HELLSTRAND et al. (102) auch für den depolarisierten Muskel bestätigt.

SUTTER (219) gibt für die Induktion einer myogenen Aktivität

bei der Ratten-Portalvene eine Mindest-Ca-Konzentration im EZR von 0,4 mmol/l an. Bei 0,8 mmol/l waren zwar alle von SUTTER untersuchten Präparate spontan aktiv, doch ihre Kontraktionsamplituden erreichten nur etwa ein Zehntel derer in normaler KREBS-Lösung. Die gleiche Ca-Konzentration (0,8 mmol/l) löste nach Induktion durch Noradrenalin Kontraktionen aus, deren Amplituden in Abhängigkeit von der Noradrenalin-Konzentration 30 - 100 % der Norm erreichten. Sogar bei der geringen extrazellulären Ca-Konzentration von 0,2 mmol/l vermochte Noradrenalin noch spontane Kontraktionen zu induzieren (219).

Aus diesen Ergebnissen ist ersichtlich, daß die spontanen Kontraktionen der V. portae mehr von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig sind als die durch Noradrenalin induzierten.

Ebenso sind die durch eine hohe extrazelluläre K^{+} -Konzentration induzierten Kontraktionen bei Arterien und Venen in stärkerem Maß von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig als die durch Noradrenalin induzierten (37, 85, 109, 113).

SIGURDSSON et al. (201) verzeichneten bei der Ratten-Portalvene bereits nach 5-6 Minuten ein Sistieren der durch K^{+} (122 mmol/l) induzierten Kontraktionen in Ca-freiem Medium.

UVELIUS et al. (228) und BIAMINO et al. (19) zeigten, daß für das Einsetzen der Spontanaktivität und der K^{+} -induzierten Kontraktionen der Ratten-Pfortader eine Schwellenkonzentration von 0,5 bzw. 0,1 mmol/l Calcium im EZR notwendig ist.

Aus der unterschiedlichen Ca-Abhängigkeit der K^{+} - und Noradrenalin-induzierten Kontraktionen der Gefäßmuskulatur wurde geschlossen, daß durch die K^{+} -Depolarisation Membrankanäle für Ca^{++} geöffnet würden, so daß extrazelluläre Calciumionen entlang ihres Gradienten ins Zytoplasma gelangen könnten, während die Noradrenalin-induzierten Kontraktionen durch Freisetzung von intrazellulärem Calcium eingeleitet und erst in der tonischen Phase durch den Ca^{++} -Influx aufrechterhalten würden (37, 52, 58, 110).

Im Gegensatz dazu fanden ANDERSSON et al. (6) ebenfalls an der Ratten-Portalvene keine unterschiedlichen Effekte der K^+ - und der Noradrenalin-induzierten Kontraktionen in Ca-freiem Medium. In beiden Fällen kamen die Kontraktionen rasch zum Erliegen.

2.7.2. Natrium/Calcium-Interaktion

Daß eine Variation der intra- und extrazellulären Na^+ -Konzentration die glatte Muskulatur durch eine Veränderung der freien intrazellulären Calciumionen beeinflussen kann, wurde von vielen Autoren nachgewiesen (19, 24, 41, 148, 184).

Der vollständige Ersatz von Natrium durch Saccharose in der Inkubationslösung führt bei der V. portae zu einem tonischen Spannungsanstieg, der mit hoher Spike-Frequenz einhergeht und bald von einer Relaxation gefolgt ist (19, 148).

Ein Ersatz des extrazellulären Natriums durch Lithium, Cholin oder Saccharose induziert bei arteriellen Gefäßmuskeln reversible Kontraktionen, die zu einer Erhöhung des Netto-Ca-Gehaltes im Gewebe führen (24).

Ca^{++} -Flux-Messungen an der Kaninchen-Aorta ergaben, daß eine Erniedrigung der extrazellulären Na^+ -Konzentration auf 31 mmol/l (isoosmotischer Ersatz durch Saccharose oder Cholinchlorid) den $^{45}Ca^{++}$ -Influx auf das 3,2-fache erhöhen (41).

REUTER et al. (184) untersuchten den Effekt einer Na^+ -Substitution auf den $^{45}Ca^{++}$ -Efflux an der Kaninchen-Aorta. Das Auswaschmedium enthielt entweder 0,4 mmol/l $LaCl_3$ oder war Ca-frei (durch Zusatz von 0,5 mmol/l EGTA), um die ^{45}Ca -Ionen während der späten Efflux-Phase zu erniedrigen. Unter diesen Bedingungen bewirkte eine Cholin-Substitution eine Abnahme der $^{45}Ca^{++}$ -Efflux-Rate um ein Drittel, und das Wiedereinsetzen von Natrium stimulierte den $^{45}Ca^{++}$ -Efflux. Diese Ergebnisse wurden als Beweis für einen Na-Ca-Austausch-Carrier interpretiert.

Zur Klärung der Na/Ca-Interaktionen wurden einige Modelle aufgestellt:

Die Annahme eines Membrancarriers, bei dem 1Ca^{++} durch 2Na^{+} ersetzt werden kann und umgekehrt (184), führt zu einer direkten Beziehung zwischen der extrazellulären Na^{+} -Konzentration und dem Ca^{++} -Efflux. Dabei kommt es bei dem höchsten Verhältnis der extra- zur intrazellulären Na^{+} -Konzentration von 15 zu einer Muskelrelaxation, während der Basaltonus mit Abnahme des Verhältnisses steigt (23).

In einem anderen Modell werden nicht Transport-, sondern Calcium-Bindungsstellen an der Membranoberfläche angenommen. Diese können vom Natrium kompetitiv besetzt werden, so daß die membranstabilisierende Eigenschaft des Calciums aufgehoben wird, und eine Depolarisation mit Freisetzung von intrazellulär gebundenem Calcium folgt (55).

Außerdem wird an die Möglichkeit von allosterischen Effekten gedacht, aufgrund derer die Bindung von Na^{+} auf der einen Seite der Zellmembran eine Ca^{++} -Affinitätsänderung auf der anderen Seite bedingen könnte (19, 167).

Eine Änderung des Na^{+} -Gradienten könnte indirekt, durch Wirkung auf das Membranpotential die Kontraktilität des glatten Muskels beeinflussen (38). Dies wird durch die Tatsache untermauert, daß die Membranpermeabilität für Natriumionen bei der glatten Muskulatur im Vergleich zu anderen Geweben relativ hoch ist (47). Da der K^{+} -Gradient dem Na^{+} -Gradienten direkt entgegensteht, hat eine Veränderung dieses Gradienten ebenfalls Einfluß auf die Calcium-Mobilisation (38).

Wie bereits erwähnt (S. 10, Mitte) wird die Ca^{++} -Konzentration im Zytoplasma des glatten Muskels über die Membranoberfläche (117, 206), das SR (59) und möglicherweise in geringem Maß durch die Mitochondrien (13) reguliert. Entsprechend dazu existieren zahlreiche spezifische Stellen, von denen aus Natriumionen theoretisch auf die Kraftentwicklung der glatten Muskulatur Einfluß nehmen könnten (38):

1. Die Zellmembran-aktive Ca^{++} -Extrusionspumpe
2. Passive Membrankanäle, die für Calciumionen passierbar sind
 - a) Rezeptor reguliert

- b) MP reguliert
- c) Potential-unabhängige Kanäle
- 3. Ca^{++} -Bindungsstellen an der Innenseite der Membranoberfläche
 - a) Rezeptor reguliert
 - b) MP reguliert
 - c) unabhängig von der Stabilität der Phosphorlipid-Doppelschicht
- 4. Ca^{++} -Bindungsstellen an der Außenseite des SR
- 5. Die SR-Ca^{++} -ATPase
- 6. Die Ca-Freisetzungsstellen des SR
- 7. Ca-Bindungsorte an den Mitochondrien
- 8. Die Ca^{++} -Pumpe an den Mitochondrien
- 9. Ca-Freisetzungsstellen an den Mitochondrien
- 10. Ca-Bindungsstellen an löslichen Ca-Puffermolekülen
- 11. Ca-sensitive Stellen an den regulierenden Proteinen des kontraktilen Apparates
- 12. Autonome Nervenendungen

2.8. DIE WIRKUNG DER LOKALANAESTHETIKA UND DES ANTIARRHYTHMIKUMS TOCAINID AUF DIE GLATTE MUSKULATUR

2.8.1. Lokalanaesthetika

Die Schmerzausschaltung durch Lokalanaesthetika (LA) wird über eine Blockade der Fortleitung des Aktionspotentials an den Nervenfasern ermöglicht. Diese Blockade kann prinzipiell bei allen erregbaren Strukturen erreicht werden, so auch bei der glatten Muskulatur.

In einigen Fällen wurde gezeigt, daß der hemmende Effekt der LA auf einer Antagonisierung des Na^{+} -Influx beruht, der mit der AP-Generierung einhergeht (198, 222). Untersuchungen an verschiedenen glattmuskulären Organen zeigten jedoch, daß die LA auch die transmembranalen Bewegungen anderer Kationen wie K^{+} und Ca^{++} beeinflussen (115, 197, 198).

Da die Kontraktionshemmung der glatten Muskulatur des Ratten-

Uterus durch LA auch im Na^+ -freien Medium oder am bereits depolarisierten Muskel stattfindet, nimmt FEINSTEIN (66) eine Beeinflussung der Ca^{++} -Bewegung als Wirkungsgrundlage an. Er kommt zu der Feststellung, daß es sich bei der relaxierenden Wirkung der LA auf die glatte Muskulatur um einen kompetitiven Ca-Antagonismus handeln muß, was durch viele andere Studien bestätigt wird (22, 67, 131, 195).

Eine Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration vermag die hemmende Wirkung der LA zu antagonisieren (66).

Untersuchungen mit radioaktivem Calcium ergaben, daß Procain und Tetracain die Freisetzungsrates von $^{45}\text{Ca}^{++}$ am Nerv und am Muskel erhöhen (112, 146), indem sie vermutlich $^{45}\text{Ca}^{++}$ von den Membranbindungsstellen verdrängen. Wie Studien über den Ca^{++} -Flux zeigen, vermögen sich positiv geladene LA an die Vesikel des SR anzulagern (11), die locker gebundenen Calciumionen zu verdrängen (223) und den transmembranalen Ca^{++} -Influx und -Efflux an den Vesikeln zu blockieren (46, 223, 237).

Neutrale Lokalanaesthetika, einschließlich derer vom Amidtyp, bewirken eine Ca^{++} -Permeabilitätserhöhung der Retikulummembran, was nach Ca^{++} -Freisetzung aus dem SR zur Muskelkontraktion führen kann (215, 223).

BIANCHI und BOLTON (20) beobachteten eine synergistische Wirkung von geladenen und nicht geladenen Formen der LA in der AP-Blockade an der erregbaren Membran und einen antagonistischen Effekt der beiden Formen an der Membran des SR.

Was die Hemmung der Ca-Akkumulation am isolierten SR betrifft, wurde für Tetracain eine fast 10 mal größere Effizienz festgestellt als für Procain und Lidocain der gleichen Konzentration (131). Tetracain reduziert hierbei sowohl die maximale Bindungskapazität der Vesikel für Calciumionen wie auch die initiale Ca-Aufnahme (131).

Wie bereits aus den angeführten Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der LA hervorgeht, besitzen die LA nicht allein kontraktionshemmende Eigenschaften, sondern üben einen biphasischen Effekt auf die glatte Muskulatur aus (241).

In vivo-und in vitro-Studien beweisen, daß die LA - wenn sie auch allgemein als Vasodilatoren gelten - in niedrigen Konzentrationen auf die glatte Muskulatur stimulierend wirken, was zur Vasokonstriktion führt. So konnte an der isolierten Ratten-Aorta durch Lignocain, an der V.portae von Katze und Ratte durch Procain und Lignocain, an der V.portae der Ratte durch Mepivacain eine Tonuserhöhung festgestellt werden (2,8, 191).

Die Qualität des Effektes der LA auf die Gefäßmuskulatur ist von ihrer Konzentration abhängig.

Mit steigender Konzentration vermögen sie (22):

- 1) die mechanische Spontanaktivität in Amplitudenhöhe und Frequenz zu verstärken,
- 2) den Basaltonus mit den überlagerten phasischen Kontraktionen zu erhöhen,
- 3) die tonische Aktivität weiter zu steigern und aufrechtzuerhalten,
- 4) eventuell jede myogene Aktivität zu unterdrücken.

Vergleichende Studien an der V.portae der Ratte zeigen, daß Prilocain, Mepivacain und Procain den Basaltonus am stärksten erhöhen (22, 53), während Lidocain, Tetracain, Bupivacain und Etidocain den Basaltonus nur geringgradig verändern (53).

Die Verstärkung der Spontanaktivität der V.portae durch LA scheint nicht in Korrelation zu stehen mit der anaesthetischen Potenz der verschiedenen Verbindungen; so zeigt Prilocain die stärkste Wirkung auf die myogene Aktivität, während Etidocain den geringsten Effekt ausübt (53).

ÖBERG und WAHLSTRÖM (2) zeigen anhand elektrophysiologischer Untersuchungen an der V.portae der Ratte, daß die Effekte der LA auf die Kontraktilität der glatten Muskulatur nicht in direkter Verbindung zu Membranpotential-Veränderungen oder Aktionspotential-Generierung stehen. So hatten die geringen Konzentrationen von Mepivacain einen Spannungsanstieg ohne Beeinflussung der Spike-Aktivität zur Folge. Erst nach weiterer Spannungszunahme kam es zu einer Verstärkung der Spike-Akti-

vität (2). Bei einer Konzentration von 1 mmol/l hemmte Mepivacain nach einer initialen kontraktile Phase von 20 Minuten die mechanische Aktivität der V. portae, obwohl die Spike-Aktivität bestehen blieb (1).

Elektrophysiologische Untersuchungen der Procain-Wirkung auf andere glattemuskuläre Organe ergaben, daß der stimulierende Effekt dieser Substanz mit Membrandepolarisation und Reduktion des K^+ -Efflux einhergeht (50, 118, 119, 142, 147, 220).

ÅBERG und WAHLSTRÖM (2) fanden die Ca-antagonistische Wirkung von Mepivacain auch an der K^+ -depolarisierten V. portae bestätigt.

Auch Tetracain bewirkt ebenso wie Mepivacain (2) eine Abnahme der Maximalantwort nach KCl-Induktion und führt zu einer Rechtsverschiebung der KCl-Dosis-Wirkungs-Kurve. Dies ergaben Untersuchungen, die FLEISCH et al. (75) an der Ratten-Portalvene angestellt hatte. Aus der gleichen Studie (75) geht hervor, daß Tetracain und Lidocain die kumulative Dosis-Effekt-Kurve des Noradrenalin in ähnlicher Weise verändern, wie es bei irreversibel kompetitiven α -Rezeptoren-Blockern (Dibenamin) beobachtet wurde. Dabei bewirken niedrige LA-Dosierungen lediglich eine Rechtsverschiebung, höhere jedoch eine Abnahme der Steigung im Kurvenverlauf, sowie eine Verminderung der Maximalantwort (75).

Diese Beobachtung konnte von KEATINGE (142) an der A. carotis des Schafes bestätigt werden.

2.8.2. Tocainid

Wie bereits erwähnt (S.31), können die Lokalanaesthetika alle erregbaren Organsysteme beeinflussen. Aufgrund ihrer Wirkung am Herzmuskel werden einige Vertreter der Gruppe Lokalanaesthetika klinisch als Antiarrhythmika eingesetzt (Lignocain, Procainamid, Disopyramid, Carbamazepin, Kö 1173 und Tocainid).

Das neuentwickelte Lidocain-Derivat Tocainid, das sich durch pharmakodynamische Vorteile gegenüber dem Lidocain auszeichnet, wurde in den letzten Jahren klinisch getestet. Experi-

mentelle Untersuchungen konzentrieren sich auf die Wirkung von Tocainid auf die ektope Reizbildung in den Purkinje-Fasern und im Ventrikelmyokard (173).

Da einige Antiarrhythmika aufgrund ihrer membranstabilisierenden Eigenschaften auch zur Therapie von Skelettmuskelerkrankungen eingesetzt werden, überprüften DENGLER et al. (56) diese neue Substanz auch auf diesbezügliche Wirkungen am Zwerchfellstreifen der Ratte. Die intrazellulären Meßergebnisse ähneln den von SENGES et al. (196) für Procainamid beschriebenen: Das Ruhemembranpotential wurde durch Tocainid (5×10^{-4} mol/l) nicht beeinflusst; es zeigten sich eine Frequenz- und Amplitudenabnahme der Aktionspotentiale. Die Dauer der Aktionspotentiale nahm zu, was eine Verlängerung der Refraktärzeit zur Folge hatte. Dies ist nach DENGLER et al. (56) die Grundlage für den antimyotonischen Effekt des Tocainid. Für die Reduktion der mechanischen Kraftentwicklung wird ein direkter Angriff des Tocainid am Sarkoplasmatischen Retikulum in Erwägung gezogen (56).

WINKLE et al. (238) testeten die Wirkung von Tocainid an Patienten mit Linksherzinsuffizienz. Die intravenöse Gabe von 0,5 - 0,75 mg/kg/min. Tocainid verursachte eine leichte Erhöhung des peripheren Widerstandes und arteriellen Druckes, wogegen die Herzleistung nicht signifikant verändert wurde.

2.9. DIE WIRKUNG SPEZIFISCHER CALCIUM-ANTAGONISTEN SPEZIELL DES NIFEDIPIN AUF DIE GLATTE MUSKULATUR

Neben den Lokalanaesthetika, die den rasch depolarisierenden Natriumionenflux am Nerv und am Herzmuskel blockieren, gibt es eine zweite Gruppe von Antiarrhythmika, die eine spezifisch inhibitorische Wirkung auf den Herzmuskel haben.

Diese spezifischen Calcium-Antagonisten, Verapamil, D 600 und Nifedipin, dienten in vielen Studien als experimentelle Grundlage zur Aufklärung der Rolle des Calciums bei der elektromechanischen Kopplung am Herzmuskel und an glattemuskulären Organen (71).

Verapamil, D 600 und Nifedipin hemmen den transmembranären Ca^{++} -Influx in die erregten Myokardfasern, ohne den gleichzeitigen Na^{+} -Einstrom bzw. K^{+} -Ausstrom während des Aktionspotentials merklich zu stören (74). Letzteres wurde anhand der voltage-clamp-Technik nachgewiesen. Die isometrische Kontraktionskraft wird so selektiv reduziert, ohne daß dabei das Ruhemembranpotential sinkt (69,74).

Der relaxierende Effekt der Ca-Antagonisten auf die glatte Muskulatur der Gefäße wurde an verschiedenen Präparaten erforscht (21,35, 68, 71, 72, 85, 88, 89, 93, 95, 99, 164).

Nach FLECKENSTEIN (71) resultiert die Relaxation der glatten Muskulatur durch Ca-Antagonisten entweder direkt aus einer Hemmung der Ca-abhängigen Kontraktionsfähigkeit oder indirekt aus einer Unterdrückung der Ca-abhängigen Membranerregung. So werden spontane Impulsentladungen in isolierten glattemuskulären Organen, wie Uterus (73), Taenia coli (185) und V.portae (88) durch Verapamil, D600 und Nifedipin in Konzentrationen unterdrückt, die niedriger sind, als es für eine elektro-mechanische Blockade erforderlich wäre.

Im Gegensatz dazu ist die letztgenannte Wirkung bei der glatten Muskulatur der Koronar-, Pulmonal- und Gehirnarterien vorherrschend (93, 94, 99.177).

In der Reihe der Ca-Antagonisten hat Nifedipin vor Verapamil, Phenylalanin und Papaverin die größte Wirkstärke (93). Bei der Neutralisation des K^{+} -induzierten Spasmus des Schweine-Koronarstreifens zeigt Nifedipin eine mehr als 100-fach stärkere Wirkung als Papaverin (71). Ein einziges Molekül Nifedipin vermag die Wirkung mehrerer Tausend Calciumionen bei der elektro-mechanischen Kopplung zu neutralisieren (70).

Die hemmende Wirkung von Nifedipin auf die Kontraktion der Gefäßmuskulatur kann durch Erniedrigung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration wieder aufgehoben werden (93).

GOLENHOFEN et al. (88,89) untersuchten die Wirkung der Ca-Antagonisten auf die Noradrenalin-induzierten Kontraktionen

der V.portae des Meerschweinchens. Dabei unterdrückte Verapamil die erste Komponente der elektrischen Reaktion, die Spike-Generierung, völlig, während die zweite Komponente, die Depolarisation, quantitativ unverändert bestehen blieb. Die mechanische Kontraktionsantwort war unter diesen Bedingungen auf 40 - 50 % des Kontrollwertes reduziert (89). Bei Konzentrationen von 10^{-6} und 10^{-5} mol/l zeigte Verapamil eine relativ geringe Hemmung der durch Noradrenalin induzierten Kontraktion der V.portae des Meerschweinchens (88). Bei diesen Konzentrationen zeichnete sich ein Plateau in der Dosis-Effekt-Kurve für Verapamil ab. Für Nifedipin erhielten GOLENHOFEN et al. ähnliche Resultate. Das Plateau war bereits bei 10^{-7} mol/l erreicht, und eine Konzentrationserhöhung auf 10^{-5} mol/l hatte keine weitere Reduktion der maximalen Noradrenalin-induzierten Kontraktion zur Folge. Diese Ergebnisse bestätigen die frühere Beobachtung, daß die Spike-Generierung bei der V.portae völlig durch Verapamil oder Nifedipin in Konzentrationen unterdrückt werden kann, bei denen das Plateau erreicht ist.

MIKKELSEN et al. (164), die vergleichend die Wirkung von Verapamil und Nifedipin auf K^{+} - und Noradrenalin-induzierte Kontraktionen von Human-Mesenterialarterien und -venen prüften, erhielten in etwa gleiche Ergebnisse. Beide, Nifedipin und Verapamil, erniedrigten die Amplitude der Noradrenalin-induzierten Kontraktionen der Mesenterialvenen. Sie bewirkten keine Spannungserniedrigung während der langsamen Phase der Kontraktion. Daraus schließen MIKKELSEN et al. (164), daß die beiden Antagonisten den Ca^{++} -Influx während der langsamen Phase der Noradrenalin-induzierten Kontraktion nicht beeinflussen können.

Was die K^{+} -induzierten Kontraktionen betrifft, stellten MIKKELSEN et al. (164) jedoch einige Unterschiede in der Wirkungsweise der beiden Substanzen fest. In Übereinstimmung mit früheren Ergebnissen, die an isolierten peripheren Venen des Menschen (163) gewonnen wurden, war die Nifedipin-Wirkung auf die durch Kalium induzierten Kontraktionen deutlich stärker

als die des Verapamil. Dabei erniedrigte Nifedipin in Arterien und Venen nicht nur die Amplituden der initialen raschen Kontraktionsphase, sondern verminderte auch die Spannung der folgenden langsamen Phase. Dieser letztgenannte Effekt konnte bei Verapamil nicht verzeichnet werden (164).

Eine weitere interessante Beobachtung geht aus der gleichen Studie hervor: Ein Entzug von extrazellulärem Calcium hemmte die langsame Phase der K^{+} -induzierten Kontraktionen der Mesenterialarterien in geringerem Maß als dies Verapamil und Nifedipin vermochten. Zudem relaxierten die K^{+} -induzierten Präparate nach Zugabe von Verapamil und Nifedipin schneller als nach Entzug von extrazellulärem Calcium. Eine mögliche Erklärung dafür wäre nach MIKKELSEN et al. (164), daß die Ca-Antagonisten nicht nur den Ca^{++} -Influx, sondern auch die Calcium-Freisetzung in der Zelle hemmen.

Andere Autoren scheinen diese Möglichkeit weniger in Betracht zu ziehen. Nach TRIGGLE et al. (224) existieren zwei verschiedene Typen von Calcium-Kanälen: ein Potential-abhängiger Kanal (potential dependent channel, PDC), der durch Abnahme des Membranpotentials aktiviert wird und für die AP-Generierung verantwortlich ist, und ein Rezeptor-wirksamer Kanal (receptor operated channel, ROC), der Calciumionen mit geringer oder fehlender Depolarisation passieren läßt.

Elektrophysiologische Studien zeigten, daß die Ca^{++} -Kanal-Antagonisten Verapamil, D600 und Nifedipin den Ca^{++} -Influx hemmen (224). Sie wirken nicht-kompetitiv gegen Agonist-induzierte und kompetitiv gegen Ca^{++} -induzierte Kontraktionen.

Die nicht-kompetitive Wirkung von D600 und Nifedipin gegen den Muskarin-Agonisten CD konnten ROSENBERGER et al. (189) am Longitudinalmuskel des Meerschweinchen-Ileums zeigen. Sie schließen daraus, daß sich der Angriffsort der Ca-Antagonisten von der Acetylcholin-Bindungsstelle am Muskarinrezeptor unterscheidet. Ebenfalls an der Longitudinalmuskulatur des Ileums wurde gezeigt, daß diese Substanzen die Agonist-induzierte Ca^{++} -Aufnahme in die glatte Muskelzelle hemmen, wenn sie in Konzentra-

tionen appliziert werden, die ein Sistieren der mechanischen Aktivität bewirken (189).

In anderen Systemen dagegen sind die Ca-Antagonisten unwirksam (Ratten-Aorta, Kaninchen-Pulmonalarterie) oder nur teilweise wirksam (Meerschweinchen-Magen), und es gelingt ihnen nicht, eine Reihe Ca-abhängiger Potential-gesteuerter Sekretionsprozesse (Mastzellen, Speicheldrüsen etc.) zu unterbinden (181, 187). Dies bestärkt die These, daß die Antagonisten nur eine Komponente des Ca^{++} -Einstroms durch den Potential-abhängigen Kanal unterdrücken.

GOLENHOFEN et al. (86, 88) teilen die Kontraktionsantwort der glatten Muskulatur der Gefäße in P- und T-Kategorien ein:

- Die erste, P, geht mit phasischen Kontraktionen und elektrischer Spike-Aktivität einher (Spike-Aktivationsmechanismus, SAM); sie wird durch Verapamil und D600 gehemmt.
- Die zweite, T, zeigt eine tonische Kontraktionsantwort und geht mit Spike-freier Depolarisation einher (Spike-freier Aktivationsmechanismus, SFAM). Der T-Mechanismus ist gegen den Einfluß von D600 und Verapamil resistent (90).

2.10. DIE WIRKUNG CALCIUM-SELEKTIVER IONOPHOREN AUF DIE GLATTE MUSKULATUR

Die antibiotisch wirkenden Ionophoren X-537A und A 23187 vermögen die Ionenpermeabilität sowohl biologischer wie künstlicher Membranen zu verändern.

Wie Untersuchungen der Ionophore A 23187, die sich durch ihre Selektivität für zweiwertige Ionen auszeichnet, zeigten, ist der Effekt der Ionophore in starkem Maß von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig, und es wird angenommen, daß es sich bei ihrer Wirkungsweise um eine Translokation von extrazellulären Calciumionen ins Zellinnere handelt (182, 183, 188).

ROSENBERGER et al. (188) konnten mit Hilfe der Lanthanum-Technik nachweisen, daß die Ionophore die Netto-Ca-Aufnahme in

die Longitudinalmuskulzelle des Meerschweinchen-Ileums zu erhöhen vermag. Darüber hinaus stellten sie fest, daß die durch die Ionophore induzierten Kontraktionen nicht nur von der extrazellulären Ca^{++} -, sondern auch von der extrazellulären Na^{+} -Konzentration abhängig ist.

MURRAY et al. (170) untersuchten die Wirkung der Ionophore A 23187 an isolierten glatten Muskelzellen des Magens des *Bufo marinus*. Sie zeigten, daß die erste Phase der durch die Ionophore induzierten Kontraktionen von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration unabhängig ist und schlossen daraus, daß die Ionophore an intrazellulären Ca-Speichern anzugreifen vermag. Auch andere Autoren halten die intrazelluläre Ca-Freisetzung durch die Ionophore für möglich (136, 158, 188, 225).

Eine Beteiligung von endogenen Transmittersubstanzen an der Wirkung der Ionophore auf die glatte Muskulatur von Ileum, Magen und *Taenia coli* konnte aufgrund von Untersuchungen mit Atropin, Phentolamin, sowie Histamin- und δ -Hydroxytryptamin-Antagonisten ausgeschlossen werden (158, 221). Da diese Substanzen auf die durch die Ionophore induzierten Kontraktionen keinen Einfluß ausübten, nimmt man an, daß die Ionophore A 23187 direkt auf den Ca^{++} -Flux an der Membran einwirkt.

In welcher Weise die Membraneigenschaften durch die Ionophore letztlich modifiziert werden, ist noch unklar, doch scheint es sich nach Untersuchungen von SWAMY et al. (221) und TRIGGLE et al. (224) nicht um eine Membrandepolarisation zu handeln.

3. MATERIAL UND METHODIK

3.1. PRÄPARATENTNAHME

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an der isolierten V.portae des Meerschweinchens durchgeführt. Die Tötung der Tiere (♂, Körpergewicht 300 - 400 g) erfolgte durch Nackenschlag. Nach Öffnung der Bauchhöhle wurde die V.portae vom Ansatz an der Leberpforte aus über eine Länge von 1,5 cm sauber freipräpariert und an beiden Enden mit Seide umschlungen und abgebunden. Während dieses Vorgehens wurde die Pfortader durch ständiges Befeuchten mit KREBS-Lösung vor Austrocknung geschützt. Nach der Entnahme wurden die Präparate 5 - 10 Minuten lang in normaler KREBS-Lösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt und schließlich durch Befestigung der Seidenfäden in den Halterungen des Inkubationsgefäßes und des induktiven Kraftaufnehmers im Organbad mit normaler KREBS-Lösung fixiert.

3.2. MESSANORDNUNG ZUR ISOMETRISCHEN KRAFTAUFNAHME

Die isometrische Kraftmessung erfolgte mit Wägezellen (HBM-Kraftaufnehmer*, Typ Q 11; 50 g; = 16 mV/V), angeschlossen an die Versorgungs- und Meßverstärkereinheit (MG 3172; HBM). Die Ausgangssignale dieser Einheit wurden auf einen Rikadenki 3-Kanal-Direktschreiber aufgezeichnet.

Die Eichung der Empfindlichkeit der isometrischen Meßeinheit erfolgte mittels Eichgewichten und konnte bis zum Bereich von 10 mg bei entsprechender Verstärkung abgestimmt werden.

Das Inkubationsgefäß aus doppelwandigem Plexiglas faßt ein Volumen von 150 ml und ermöglicht eine gleichzeitige Aufnahme von 6 Präparaten. Durch umlaufend thermostatisiertes Wasser im Mantel des Plexiglasgefäßes wurde die Inkubationslösung in einer gleichbleibenden Temperatur von $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ gehalten. Auch Austausch- und Testlösungen wurden mittels Wär-

*) HBM = Hottinger Baldwin Meßtechnik GmbH Darmstadt.

meaustauscher auf die Inkubationstemperatur vorgewärmt. Alle CaCl_2 -haltigen Lösungen wurden kontinuierlich mit Carbogen (O_2 - 95 %; CO_2 - 5 %) durchperlt. Der pH-Wert lag bei 7,25.

Definition der Isometrischen Kraft:

Sie wird als spontane bzw. induzierte Änderung der Kraft in 10^{-2} N nach einer definierten Ruhedehnung der Präparate gemessen.

Als phasisch wird sie bezeichnet, wenn ihre Änderung in kurzen Zeitabständen mit dazwischen liegender Relaxation erfolgt. Treten diese phasischen Kraftänderungen in einer gewissen Folge auf, so werden sie als rhythmisch bezeichnet.

Als tonisch wird sie bezeichnet, wenn der Kraftänderung keine Relaxierung folgt, sondern ein erhöhter Tonus über längere Zeit bestehen bleibt.

Die in das Organbad eingebrachten und in der Meßanordnung fixierten Präparate wurden mit 3×10^{-2} N vorgedehnt. Danach kam es aufgrund der viskös-elastischen Eigenschaft der glatten Muskulatur der V.portae zu einem initialen Spannungsabfall (Relaxation des Präparates).

Nach einer mittleren Äquilibrationdauer von 60 Minuten wurde nach Stabilisierung der tonischen und phasischen Spontanaktivität der Präparate mit den entsprechenden Untersuchungen begonnen.

Die Versuchsdauer schwankte zwischen 2-12 Stunden. Temperatur, pH-Wert und ionale Zusammensetzung der Inkubationslösung wurden in regelmäßigen Abständen überprüft.

3.3. LÖSUNGEN

Als Inkubationslösungen wurden neben der normalen KREBS-Lösung eine Calcium-freie KREBS-Lösung (Ca-nominell-0), sowie Natrium-freie Lösungen mit verschiedenem Calcium-Gehalt (Ca-2,5 - 16 - 47 - 66 - 94) angewandt.

Die KREBS-Lösung mit Ca^{++} 0 hatte mit Ausnahme des weggelassenen CaCl_2 (2,5 mmol/l) die Zusammensetzung der Standard-KREBS-Lösung.

Die Ca^{++} -Konzentration in der nominell Ca^{++} -freien KREBS-Lösung lag bei 10^{-5} mol/l.

In der Ca-66-Lösung entsprach die Chloridionen-Konzentration der in normaler KREBS-Lösung.

In der Ca-2,5-Lösung entsprach die Calciumionen-Konzentration der in normaler KREBS-Lösung.

Die Lösungen wurden für jeden Versuch aus vorrätigen Stammlösungen stets frisch angesetzt.

KREBS-Lösung

Na^+	136,5 mmol/l	Cl^-	134,2 mmol/l
K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	14,4 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	H_2PO_4^-	1,2 mmol/l
Ca^{++}	2,5 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l

Ca-Lösungen

Ca-94-Lösung

K^+	5,9 mmol/l	Cl^-	189,4 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Ca^{++}	93,5 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l

Ca-66-Lösung

K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l
Ca^{++}	65,9 mmol/l	Saccharose	82,8 mmol/l
Cl^-	134,2 mmol/l		

Ca-47-Lösung

K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l
Ca^{++}	46,7 mmol/l	Saccharose	140,2 mmol/l
Cl^-	95,8 mmol/l		

Ca-16-Lösung

K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l
Ca^{++}	15,6 mmol/l	Saccharose	233,7 mmol/l
Cl^-	33,6 mmol/l		

Ca-2,5-Lösung

K^+	5,9 mmol/l	HCO_3^-	5,9 mmol/l
Mg^{++}	1,2 mmol/l	Glucose	11,5 mmol/l
Ca^{++}	2,5 mmol/l	Saccharose	273,0 mmol/l
Cl^-	7,4 mmol/l		

3.4. SUBSTANZEN

ADRENALIN: Epinephrinhydrochlorid
Suprarenin^R, Hoechst AG, Frankfurt am Main

NORADRENALIN: Noradrenalinhydrochlorid
Arterenol^R, Hoechst AG, Frankfurt am Main

PHENTOLAMIN: Phentolaminmethansulfonat
Regitin^R, Ciba-Geigy- Wehr/Baden

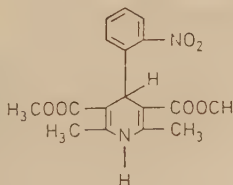
PROPRANOLOL: Propranolol-HCl
Docition^R, Rhein-Pharma, Planstadt

ATROPIN: Atropin sulfur.
Fresenius KG, Bad Homburg

AETHANOL absolut:
Aethylalkohol, E. Merck, Darmstadt

NIFEDIPIN (BAY a 1040; Adalat)

Bayer AG Leverkusen,
MG 346

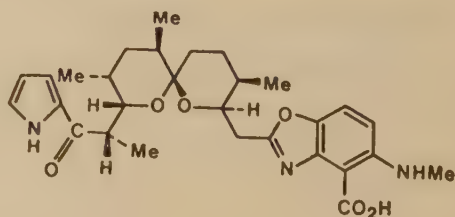


Nifedipin ist lichtempfindlich. Besonders in gelöster Form wird die Substanz schnell zu unwirksamen Abbauprodukten zer-
setzt. Die Aufbewahrung und Verarbeitung darf deshalb nur
vor Licht geschützt oder bei Natriumdampflicht erfolgen. Das
Nifedipin wurde in Aethanol vorgelöst und dann von der ent-
sprechenden Stammlösung die jeweils erforderliche Menge in
die Badelösung gegeben. Dabei wurde sowohl die Löslichkeit
des in Aethanol vorgelösten Nifedipin in H_2O ($10 \mu g/ml$) als
auch die dabei mitapplizierte Aethanolmenge berücksichtigt.
Durch Voruntersuchungen an der *Taenia coli* wurde die maxima-
le Aethanolkonzentration in der Badelösung bestimmt, die ohne
Effekt auf die mechanische Spontanaktivität der *Taenia coli*
bleibt. Diese Ergebnisse wurden dann bei den Nifedipin-Unter-
suchungen berücksichtigt. Es wurden 17.3 mg Nifedipin ad 10 ml
in Aethanol gelöst. Von der Stammlösung wurde eine Verdün-
nungsreihe (1:10) hergestellt. Aus den so angefertigten Stamm-
lösungen des Nifedipin wurden mit einer Hamilton-Spritze 20
bzw. max. $200 \mu l$ auf 100 ml Inkubationslösung appliziert. Die
dabei maximal erreichbare Endkonzentration des Nifedipin im
Organbad, bei Berücksichtigung einer Aethanolkonzentration von
max. 2% und der Löslichkeit des Nifedipin, lag bei 10^{-5} mol/l .
Die durchgeführten Voruntersuchungen über die Anwendung des
Nifedipin bei in vitro-Untersuchungen waren unbedingt not-
wendig, da bei einem Vorgehen nach einer von der BAYER AG
(PHARMA VERTRIEB) herausgegebenen Anleitung Endkonzentratio-
nen beim Aethanol von 20% im Organbad eintreten, die un-
weigerlich zu einer Interaktion des Aethanol-Eigeneffektes
mit dem Nifedipin-Effekt auf die Spontanaktivität führen.

IONOPHORE A 23187

Calbiochem GMBH, Gießen

MG 523



Die Ionophore A 23187 wurde in Aethanol gelöst und dann von der entsprechenden Stammlösung die jeweils erforderliche Menge der Badelösung gegeben. Dabei wurde sowohl die Löslichkeit der Ionophore in H_2O als auch die mitapplizierte Aethanolmenge berücksichtigt. Die maximale Aethanolkonzentration im Organbad betrug 2‰.

Lokalanaesthetika:

Procain

Fa. Serva

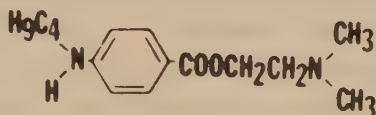
MG 272,8



Tetracain

Fa. Serva

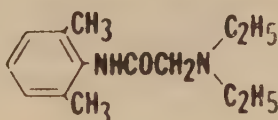
MG 300,8



Lidocain

Fa. Astra Chemicals GmbH

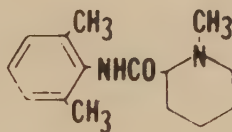
MG 280,81



Mepivacain

Fa. Astra Chemicals GmbH

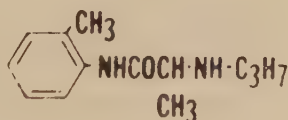
MG 282,8



Prilocain

Fa. Astra Chemicals GmbH

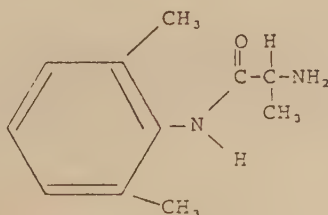
MG 256,8



Tocainid

Fa. Astra Chemicals GmbH

MG 228,72



3.5. DARSTELLUNG UND AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Zu jeder Fragestellung wurden mindestens 6 Untersuchungen an Einzelpräparaten der V. portae durchgeführt.

Die Darstellung erfolgt entweder in Form von Originalregistrierungen oder in Form von Graphiken. Die in den Graphiken eingetragenen Punkte sind Mittelwerte und Standardabweichungen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde bei einigen graphischen Darstellungen auf die Eintragung der Standardabweichung verzichtet.

Aus den Originalregistrierungen wurden die Kontraktionshöhen und bei Untersuchungen in Natrium-freien Calcium-Lösungen auch die Latenz ermittelt.

Die Latenz gibt den Zeitraum vom Inkubationsbeginn bis zum Auftreten der mechanischen Aktivität der V. portae an. Sie wurde in Millimeter gemessen und entsprechend der Schreibgeschwindigkeit in Minuten umgerechnet.

Die Höhen der phasischen und tonischen Kontraktionen wurden ebenfalls in Millimeter gemessen und in Newton bzw. Prozent zur Norm umgerechnet.

4. ERGEBNISSE

4.1. DIE ABHÄNGIGKEIT DER ISOMETRISCHEN MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DER ISOLIERTEN V. PORTAE DES MEERSCHWEINCHENS VON VERSCHIEDENEN INKUBATIONSBEDINGUNGEN

4.1.1. Die Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens

Die Abbildung 1 zeigt eine Originalregistrierung typischer Muster der mechanischen Spontanaktivität der isolierten V. portae des Meerschweinchens. Es ist zu erkennen, daß die mechanische Spontanaktivität einer rhythmischen Modulation unterliegt. Die dem Grundtonus - tonische Komponente - überlagerten phasischen Kontraktionskomplexe variieren in Gestalt,

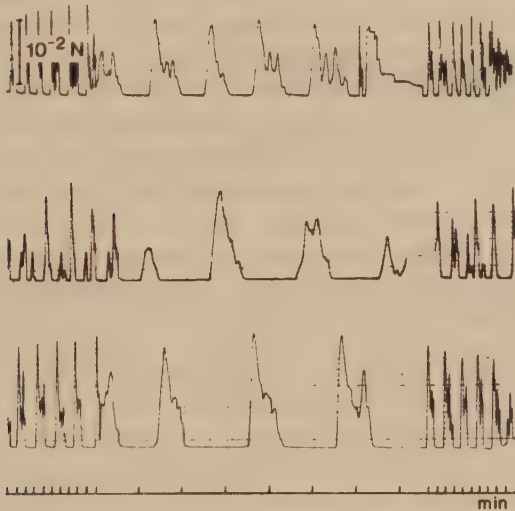


Abb. 1: Originalregistrierung der isometrischen mechanischen Spontanaktivität der isolierten V.portae des Meerschweinchens (3 Präparate) bei unterschiedlicher Schreibgeschwindigkeit.

Dauer, Amplitudenhöhe und Frequenz sowohl beim Einzelpräparat als auch von Präparat zu Präparat. Das Gesamtmuster der mechanischen Spontanaktivität zeigt jedoch eine weitgehende Uniformität, die unter Standardbedingungen über viele Stunden hinweg unverändert bestehen bleibt.

Wie aus der Registrierung mit einer höheren Schreibgeschwindigkeit ersichtlich ist, setzen sich die Kontraktionskomplexe der V. portae des Meerschweinchens aus mehrgipfligen phasischen Kontraktionen unterschiedlicher Amplitudenhöhe, Dauer und Frequenz zusammen.

4.1.2. Der Effekt der Osmolarität auf die Spontanaktivität der V. portae

Die Applikation von 5 % Saccharose und die dadurch bedingte Erhöhung der Osmolarität in der KREBS-Lösung auf 446 mosmol/l hat eine vorübergehende, etwa 15-minütige, nahezu vollständige Hemmung der phasischen Spontanaktivität der V. portae zur Folge. Die tonische Komponente der mechanischen Aktivität bleibt unbeeinflusst, d.h. es läßt sich ein annähernd konstanter Basaltonus feststellen. Nach dieser Zeitspanne kommt es zum erneuten Einsetzen der phasischen Spontanaktivität. Die Amplitudenhöhe der Kontraktionskomplexe nimmt rasch zu und erreicht schließlich ein Maximum, welches deutlich über dem der Norm liegt. Die Frequenz der phasischen Kontraktionen ist gegenüber der Norm geringgradig erniedrigt.

Eine weitere Steigerung der Osmolarität auf 592 mosmol/l, bedingt durch die Applikation von 10 % Saccharose, führt unmittelbar zu einem mäßigen Anstieg des Basaltonus. Die Amplitude der überlagerten phasischen Kontraktionen wird auf etwa die Hälfte der Norm reduziert, wogegen die Frequenz relativ unverändert bleibt. Die Osmolarität von 738 mosmol/l, bedingt durch Zugabe von 15 % Saccharose, bewirkt bei weiterer leichter Erhöhung des Basaltonus eine verstärkte Reduzierung der phasischen Kontraktionsamplitude auf etwa 1/10 der Norm.

Wird die Osmolarität in der Inkubationslösung auf das normale Niveau (300 mosmol/l) gesenkt, so kommt es nach einer kurzen Adaptationsphase (ungefähr 20 Minuten) zu einer Einstellung des normalen Basaltonus mit einer länger anhaltenden erhöhten phasischen Aktivität. Diese drückt sich besonders in einer Steigerung der Frequenz aus (Abbildung 2).

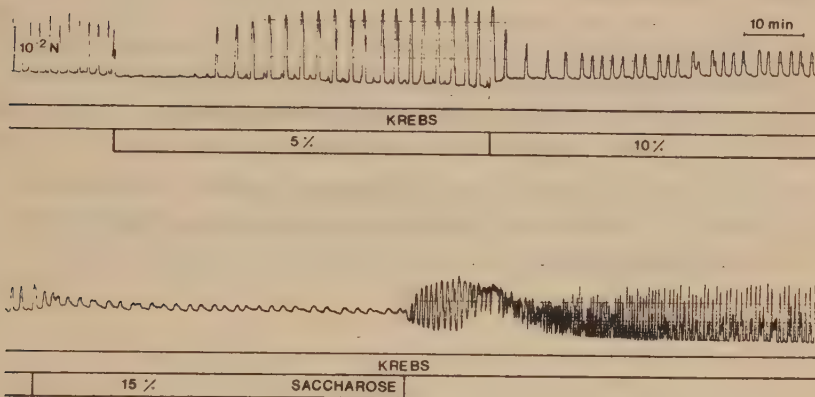


Abb. 2: Fortlaufende Originalregistrierung (oben und unten) des Effekts einer Osmolaritätserhöhung von 300 mosmol/l (KREBS-Lösung) auf 446, 592 und 738 mosmol/l, bedingt durch zusätzliche Applikation von 5, 10 und 15 % Saccharose, auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae des Meerschweinchens.

4.1.3. Der Effekt der Inkubationstemperatur auf die Spontanaktivität der V.portae

Die Abbildung 3 zeigt den Effekt einer unterschiedlichen Inkubationstemperatur (22, 30 und 37°C) auf die mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae. Es ist zu erkennen, daß es bei der Inkubation der V.portae in 22°C warmer KREBS-Lösung nach der Einstellung einer passiven Vordehnung von $3 \times 10^{-2} \text{ N}$

und dem damit verbundenen initialen Spannungsanstieg zu einer Relaxation des Präparates kommt. Die Spannungsabnahme in der Nachdehnungsphase erfolgt dabei zunächst rasch und dann zunehmend langsamer, bis ein neues Spannungsgleichgewicht bei etwa 2×10^{-2} N erreicht ist. Dieser tonische Spannungszustand (Basaltonus) wird schließlich durch das Einsetzen einer sich langsam bis zum steady state steigernden phasischen Aktivität überlagert. Die Amplitudenhöhe der phasischen Kontraktionen erreicht dabei $1/3$ der Norm (37°C), und auch die Frequenz ist erniedrigt.

Die Erhöhung der Inkubationstemperatur auf 30°C führt zu einer Steigerung der phasischen Kontraktionen, die sich sowohl in einer Amplituden- als auch Frequenzzunahme ausdrückt. Dabei ist eine geringfügige Abnahme des Basaltonus zu verzeichnen.

Bei 37°C weist die mechanische Spontanaktivität der *V.portae* das bereits in Abbildung 1 beschriebene charakteristische Kontraktionsmuster auf.

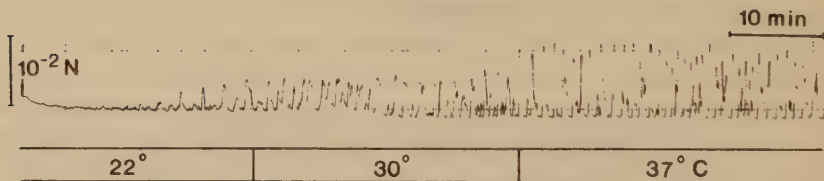


Abb. 3: Fortlaufende Originalregistrierung des Effekts einer Temperaturerhöhung in der Inkubationslösung (von $22 - 37^\circ\text{C}$) auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten *V.portae* des Meerschweinchens.

4.2. DER EFFEKT VON AETHANOL AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER VENA PORTAE

Da eine Anzahl verschiedener pharmakologisch wirksamer Substanzen aufgrund ihres Verhaltens in wäßrigen Medien Aethanol als Lösungsvermittler benötigen (Ionophore A 23187, Nifedipin u.a.), untersuchten wir den Eigeneffekt steigender Aethanolkonzentrationen auf die Spontanaktivität der V. portae.

Aus der fortlaufenden Originalregistrierung der mechanischen Spontanaktivität in Abbildung 4 ist zu erkennen, daß Aethanol in einer Konzentration von 0,1 % in der KREBS-Lösung zu einer geringfügigen Stimulierung der rhythmischen Spontankontraktionen führt, die sich in einer Frequenz- und Amplitudenerhöhung äußert.

Während es bei weiterer Steigerung der Aethanolkonzentration bis zu 10 % zu einer deutlichen Frequenzzunahme kommt, nehmen die Kontraktionsamplituden im Konzentrationsbereich 3 - 10 % stetig ab.

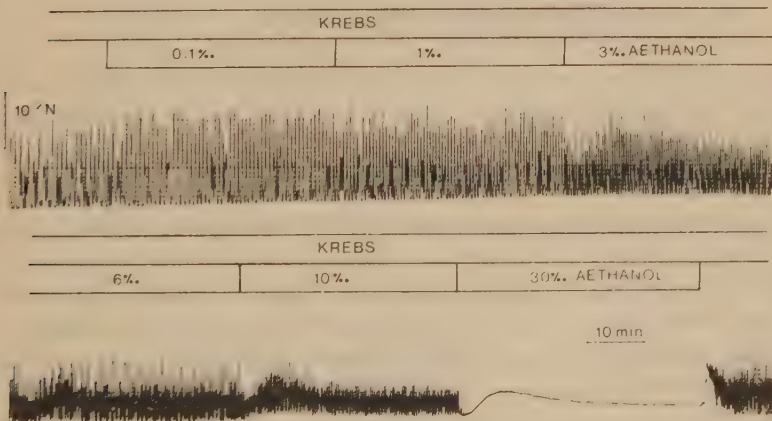


Abb. 4: Fortlaufende Originalregistrierung (oben und unten) des Effekts steigender Aethanolkonzentrationen (0,1 - 1 - 3 - 6 - 10 - 30%) in der Inkubationslösung auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae des Meerschweinchens.

6 und 10 % Aethanol induzieren eine geringgradige tonische Aktivierung mit überlagerten phasischen Kontraktionen, deren hochfrequente Amplituden schließlich auf etwa ein Drittel der Norm reduziert sind.

Bei einer Aethanolkonzentration von 30% kommt es zu noch stärkerer tonischer Spannungszunahme, die nach etwa 5 Minuten Inkubationsdauer ein Maximum erreicht, um danach wieder etwas abzufallen. Gleichzeitig sistiert die phasische Aktivität der V.portae.

Die Entfernung des Aethanols aus der Inkubationslösung führt zu einem Abfall der tonischen und zu einem Auftreten der phasischen Aktivität. Die phasischen Kontraktionen sind noch über einen langen Zeitraum hinweg besonders in ihrer Frequenz gegenüber der Norm deutlich erhöht.

4.3. DER EFFEKT DER INDUKTOREN KALIUMCHLORID, NORADRENALIN, ADRENALIN UND ACETYLCHOLIN AUF DIE SPONTANAKTIVITÄT DER V.PORTAE

4.3.1. Der Effekt einer erhöhten Kaliumchlorid-Konzentration auf die Spontanaktivität der V.portae

In der Abbildung 5 ist der Effekt einer Erhöhung der extrazellulären KCl-Konzentration (11,8 - 59 mmol/l) auf die mechanische Spontanaktivität in einer fortlaufenden Originalregistrierung aufgezeichnet.

Eine Erhöhung der KCl-Konzentration auf das Doppelte der Norm (11,8 mmol/l) führt zu einer geringfügigen Zunahme der phasischen Kontraktionen. 17,7 und 23,6 mmol/l KCl induzieren eine tonische Komponente, die von einer hochfrequenten phasischen Aktivität überlagert ist. Die Amplitudenhöhe der Einzelkontraktionen ist dabei stark reduziert.

Ab einer extrazellulären KCl-Konzentration von 29,5 mmol/l kommt es zu einer weiteren Steigerung der tonischen Spannungskomponente, die ihr Maximum etwa bei 59 mmol/l KCl erreicht. Dieses Maximum der tonischen Aktivität liegt etwa gleich hoch wie das der normalen phasischen Aktivität der Spontanrhythmik.

Während der erhöhten tonischen Spannungsentwicklung, beginnend bei 29,5 mmol/l KCl im EZR, sistieren die phasischen Kontraktionen der V.portae.

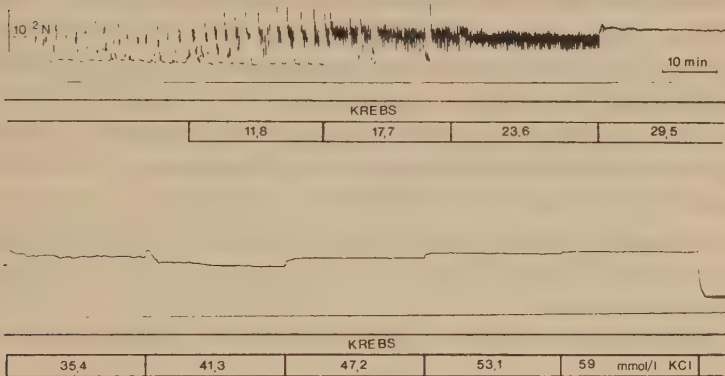


Abb. 5: Fortlaufende Originalregistrierung (oben und unten) des Effekts steigender KCl-Konzentrationen (11,8 - 59 mmol/l) in der Inkubationslösung auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae des Meerschweinchens.

4.3.2. Der Effekt steigender Noradrenalinkonzentrationen auf die Spontanaktivität der V.portae

Aus der in der Abbildung 6 gezeigten fortlaufenden Originalregistrierung ist der Effekt einer steigenden Noradrenalinapplikation auf die Spontanaktivität ersichtlich. Innerhalb des Konzentrationsbereiches von 1×10^{-9} bis 1×10^{-7} mol/l bleibt Noradrenalin ohne deutlichen Einfluß auf die mechanische Aktivität der V.portae. 3×10^{-7} mol/l Noradrenalin induzieren einen unmittelbaren, jedoch vorübergehenden Anstieg der tonischen Aktivität. Diese initiale tonische Spannungskomponente erfährt durch eine weitere Steigerung der Noradrenalinkonzentration in der Inkubationslösung sowohl in ihrer Höhe als auch in ihrer

Dauer eine Zunahme. Dabei tritt die phasische Komponente der Spontanaktivität entsprechend in den Hintergrund.

Das Spannungsmaximum der durch 10^{-5} mol/l Noradrenalin induzierten tonischen Aktivierung ist etwa doppelt so hoch wie das der normalen Spontanrhythmik. Diese erhöhte tonische Komponente bleibt während des gesamten Applikationszeitraumes erhalten und zeigt dabei folgenden charakteristischen Verlauf: Nach einem initialen kurzdauernden Spannungsspeak kommt es zu einem zunächst raschen und dann langsameren Abfall der tonischen Aktivität. Ungefähr 22 Minuten nach Applikationsbeginn erreicht die tonische Spannungskomponente ein Niveau, das dem Maximum der phasischen Spontankontraktionen entspricht.

Nach Beendigung der Inkubation in Noradrenalin-haltiger KREBS-Lösung stellt sich die normale Spontanrhythmik der V. portae sofort wieder ein.

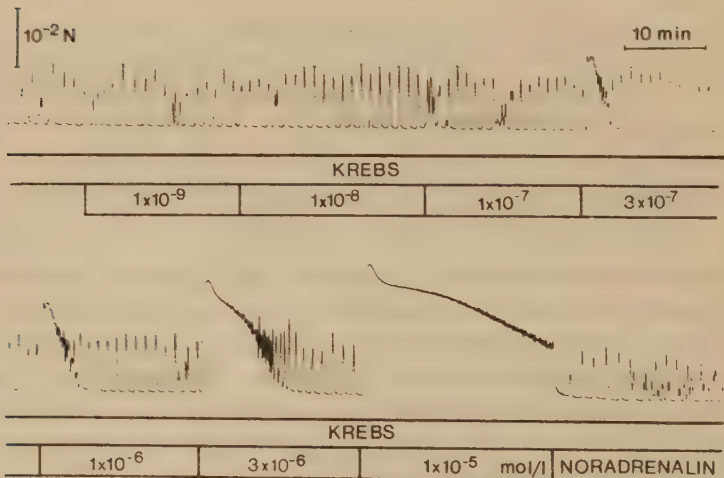


Abb. 6: Legende nach Abbildung 7.

4.3.3. Der Effekt steigender Adrenalin-Konzentrationen auf die Spontanaktivität der V. portae

Adrenalin wurde in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} mol/l zur normalen KREBS-Lösung appliziert (Abbildung 7). 10^{-9} mol/l Adrenalin führen zu keiner Änderung der normalen Spontanaktivität. 10^{-8} mol/l bewirken eine geringfügige Aktivierung der phasischen Kontraktionen. Ab einer Adrenalin-Konzentration von 10^{-7} mol/l kommt es zuerst zu einer kurzfristigen, später zu einer langfristigen tonischen Spannungszunahme, die von einer hochfrequenten phasischen Aktivität überlagert ist. Der initiale tonische Spannungsanstieg zeigt eine deutliche Konzentrationsabhängigkeit. Er erreicht unmittelbar nach Applikationsbeginn ein Maximum, auf das ein kontinuierlicher Spannungsabfall mit einhergehender Zunahme der phasischen Komponente folgt. Dieses Muster der mechanischen Aktivität ist charakteristisch für den Effekt von Adrenalin innerhalb des Konzentrationsbereiches von 3×10^{-7} bis 3×10^{-6} mol/l.

Der bereits bei 3×10^{-6} mol/l auftretende maximale tonische Spannungsanstieg läßt sich durch Erhöhung der Adrenalin-Konzentration auf 10^{-5} mol/l nicht wesentlich steigern. Dieses Spannungsmaximum ist gut doppelt so hoch wie das der normalen phasischen Kontraktionen.

Bei 10^{-5} mol/l ist der dem initialen Maximum folgende tonische Spannungsabfall weniger stark als bei geringerem Adrenalinhalt, so daß nach einer Inkubationsdauer von etwa 22 Minuten die tonische Aktivität das Maximum der phasischen Spannungskomponente noch um nahezu 100 % übertrifft. Die erhöhte tonische Spannung ist dabei mit einem Sistieren der phasischen Aktivität gekoppelt. Nach Beendigung der Adrenalinapplikation ist eine vollständige Reversibilität der spontanen rhythmischen Kontraktionen festzustellen.

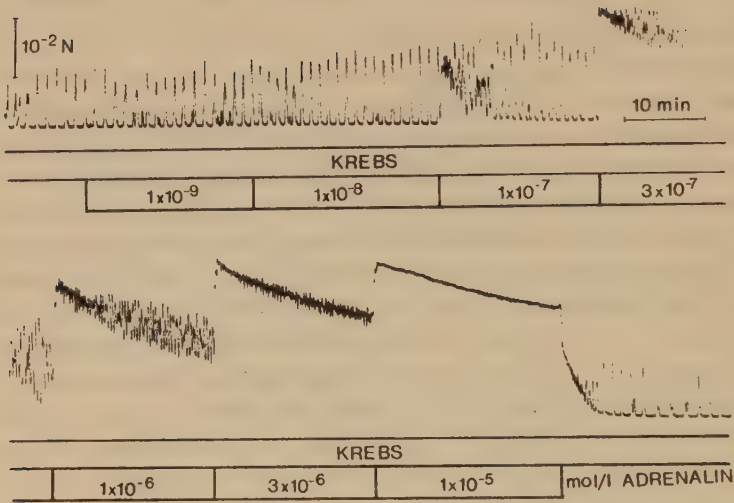


Abb. 7:

Abb. 6 und Abb. 7:

Fortlaufende Originalregistrierungen (oben und unten) des Effekts steigender Noradrenalin- (Abb. 6) bzw. steigender Adrenalin- (Abb. 7) Konzentrationen in der KREBS-Lösung auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae des Meerschweinchens.

4.3.4. Der Effekt einer α - und β -Blockade auf die Spontanaktivität, sowie auf die durch Noradrenalin und Adrenalin induzierten Kontraktionen der V. portae

Um den Wirkungsmechanismus der Katecholamine auf die mechanische Aktivität der isolierten V. portae besser analysieren zu können, untersuchten wir sowohl den alleinigen Effekt einer α -Rezeptorenblockade (Phentolamin) und β -Rezeptorenblockade (Propranolol) auf die Spontanaktivität, als auch deren Einflußnahme auf den Katecholamineffekt (Abbildungen 8, 9).

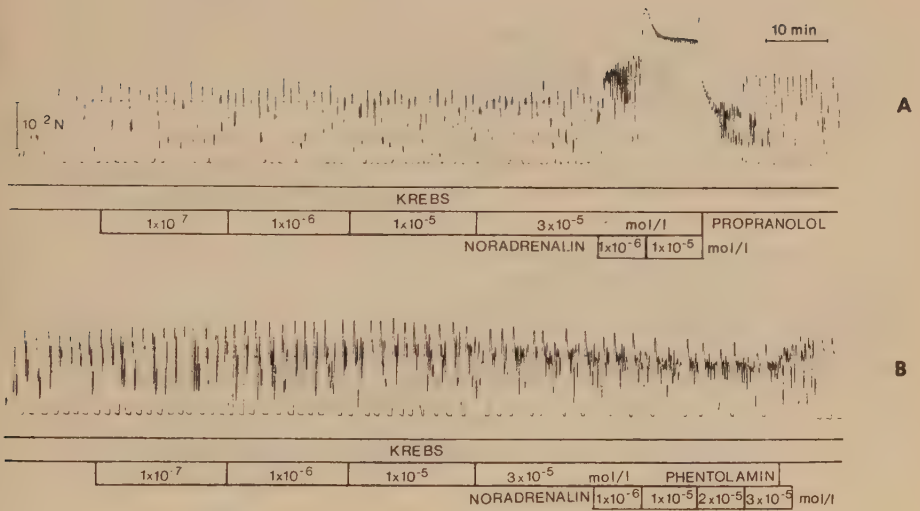


Abb. 8:

Originalregistrierung der isometrischen mechanischen Spontanaktivität der isolierten V. portae in KREBS-Lösung:

- A: Der Effekt steigender Propranololkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Noradrenalinapplikation bei Anwesenheit von Propranolol.
- B: Der Effekt steigender Phentolaminkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Noradrenalinapplikation bei Anwesenheit von Phentolamin.

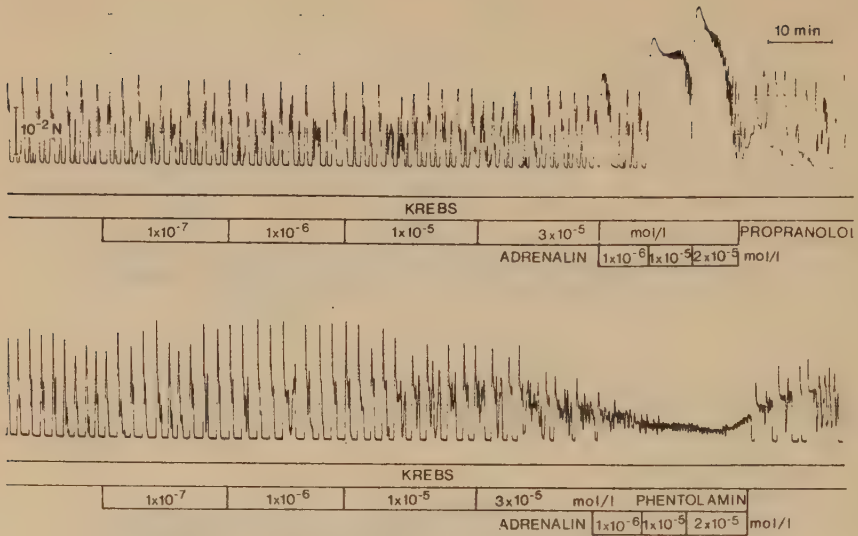


Abb. 9:

Originalregistrierung der isometrischen mechanischen Spontanaktivität der isolierten V.portae in KREBS-Lösung:

- A: Der Effekt steigender Propranololkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Adrenalinapplikation bei Anwesenheit von Propranolol.
- B: Der Effekt steigender Phentolaminkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Adrenalinapplikation bei Anwesenheit von Phentolamin.

Der Rezeptorenblocker Phentolamin bzw. Propranolol wurde in dem Konzentrationsbereich von 10^{-7} bis 3×10^{-5} mol/l in die KREBS-Lösung appliziert.

Während die normalen phasischen Kontraktionen der V.portae durch Propranolol im gesamten Dosierungsbereich unbeeinflusst bleiben, führt Phentolamin in einer Konzentration von 3×10^{-5} mol/l zu einer deutlichen Änderung der Spontanaktivität. Diese drückt sich in einer Verminderung der Amplitude und Frequenz der phasischen Kontraktionskomplexe aus, deren Dauer gleichzeitig verlängert ist. Es kommt somit zu einer weniger häufigen Relaxation des Präparates bis auf das Niveau des Basaltonus.

Auch die durch Noradrenalin und Adrenalin induzierten Kontraktionen der V.portae werden durch vorhergehende Applikation von Phentolamin und Propranolol in unterschiedlicher Weise beeinflusst.

So vermag Propranolol in einer Konzentration von 3×10^{-5} mol/l weder die durch Noradrenalin ($10^{-6} - 10^{-5}$ mol/l) noch die durch Adrenalin ($10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$ mol/l) induzierten Spannungsanstiege der V.portae zu blockieren.

Die Anwesenheit von 3×10^{-5} mol/l Phentolamin in der KREBS-Lösung verhindert den normalerweise durch Noradrenalin ($10^{-6} - 3 \times 10^{-5}$ mol/l) oder Adrenalin ($10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$ mol/l) induzierten Spannungsanstieg. Vielmehr kommt es durch die Noradrenalinapplikation zu einer mäßigen und durch die Adrenalinapplikation zu einer stark ausgeprägten Verstärkung der durch Phentolamin allein bedingten Hemmung der Spontanaktivität.

4.3.5. Der Effekt von Acetylcholin und Atropin auf die Spontanaktivität der V.portae

Die Applikation von Acetylcholin ($10^{-8} - 3 \times 10^{-5}$ mol/l) in die KREBS-Lösung bewirkt ab einer Konzentration von 10^{-6} mol/l eine Steigerung der Spontanaktivität. Dieser Effekt, der sich nicht wesentlich verstärken läßt, drückt sich vor allem in einer Frequenzzunahme der phasischen Aktivität aus (Abb.10). Atropin vermag in einer Dosierung von 3×10^{-5} mol/l den durch Acetylcholin vermittelten Effekt wieder aufzuheben.

Die alleinige Applikation von Atropin in steigender Dosierung ($10^{-8} - 3 \times 10^{-5}$ mol/l) hat keinerlei Einfluß auf die normale Spontanaktivität der V.portae. 3×10^{-5} mol/l Acetylcholin haben bei Anwesenheit von 3×10^{-5} mol/l Atropin keinen nachweisbaren Effekt auf die mechanische Aktivität.

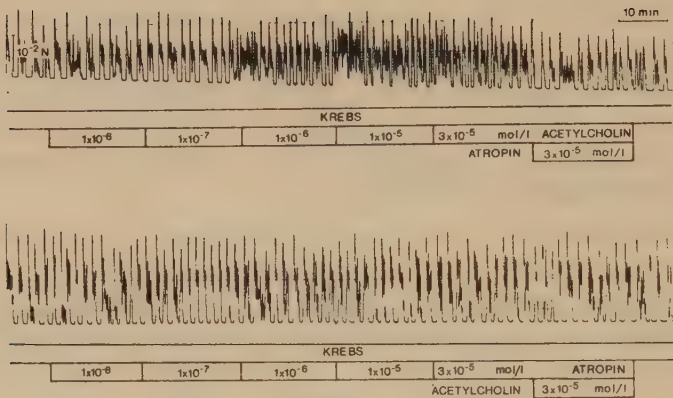


Abb. 10:

Originalregistrierung der isometrischen mechanischen Spontanaktivität der isolierten V.portae in KREBS-Lösung:

- A: Der Effekt steigender Acetylcholinkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Atropinapplikation bei Anwesenheit von Acetylcholin.
- B: Der Effekt steigender Atropinkonzentrationen auf die Spontanaktivität und der Effekt einer Acetylcholinapplikation bei Anwesenheit von Atropin.

4.3.6. Der Effekt unterschiedlicher extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Noradrenalin (10^{-5} mol/l) bzw. Kaliumchlorid (59 mmol/l) induzierten Kontraktionen der V.portae

Um eine Abhängigkeit des durch beide Induktoren bedingten Spannungsanstieges von der Ca^{++} -Konzentration im EZR zu überprüfen, variierten wir den Ca-Gehalt der KREBS-Lösung von nominell 0 über 0,25; 0,75; 1,5; 2,5; 5,0 bis 7,5 mmol/l. In der Abbildung 11 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen in Form von Originalregistrierungen dargestellt.

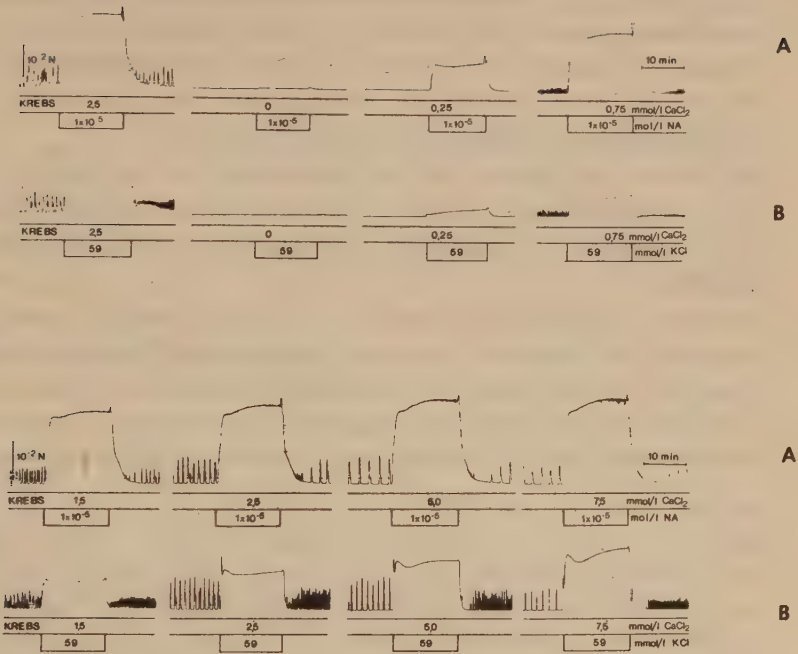


Abb. 11: Fortlaufende Originalregistrierungen (A: oben und unten; B: oben und unten) des Effekts unterschiedlicher extrazellulärer CaCl_2 -Konzentrationen (2,5; nominell 0; 0,25; 0,75; 1,5; 2,5; 5,0 und 7,5 mmol/l) auf die durch A: Noradrenalin (10^{-5} mol/l) bzw. B: KCl (59 mmol/l) induzierte mechanische Aktivität der isolierten V.portae.

Es ist ersichtlich, daß sowohl die durch Noradrenalin als auch die durch KCl induzierten Kontraktionen der V.portae eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration aufweisen.

In nominell Ca -freier KREBS-Lösung (10^{-5} mol/l Calcium) führt die Applikation von Noradrenalin nur zu einem minimalen Spannungsanstieg, der etwa 4 % des maximal durch Noradrenalin in

normaler KREBS-Lösung erreichten ausmacht. KCl bewirkt unter diesen Bedingungen keinen eindeutig erkennbaren Spannungszuwachs. Bereits $0,25 \text{ mmol/l CaCl}_2$ - dies entspricht einem Zehntel der normalen Ca^{++} -Konzentration - ermöglichen beiden Induktoren, einen deutlichen Spannungsanstieg auszulösen, der bei Noradrenalin ausgeprägter ist als bei KCl.

Die weitere Steigerung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration führt zu einem Anwachsen der induzierten Kraftentwicklung. Dies erfolgt jedoch bei beiden Induktoren in unterschiedlicher Weise.

Dabei ist festzustellen, daß die in normaler KREBS-Lösung durch Noradrenalin induzierte tonische Spannungskomponente nahezu die doppelte Höhe der maximalen phasischen Aktivität erreicht. Die durch KCl induzierte tonische Spannungskomponente übersteigt die maximale phasische Aktivität in normaler KREBS-Lösung kaum.

Während sich die durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen durch übernormale Ca^{++} -Konzentrationen (5 und $7,5 \text{ mmol/l}$) nicht wesentlich steigern lassen, erfahren die durch KCl induzierten Kontraktionen einen deutlichen Höhenzuwachs. So beträgt die durch KCl ausgelöste maximale Spannungsentwicklung bei $7,5 \text{ mmol/l CaCl}_2$ in der KREBS-Lösung etwa 200% und die durch Noradrenalin induzierte etwa 120% der Ausgangsnorm. In absoluten Werten ausgedrückt heißt das bei Noradrenalin $3,1 \times 10^{-2} \text{ N}$ und bei KCl $2,1 \times 10^{-2} \text{ N}$.

4.4. DIE ABHÄNGIGKEIT DER MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DER V.PORTAE VON DER EXTRAZELLULÄREN NATRIUMIONEN-KONZENTRATION UND VOM NATRIUM/CALCIUM-VERHÄLTNIS IN DER INKUBATIONS-LÖSUNG

4.4.1. Der Effekt des isoosmotischen Ersatzes von Natrium durch Calciumchlorid auf die Spontanaktivität der V.portae

Um den Einfluß der extrazellulären Na^+ -Konzentration auf die Spontanaktivität zu ermitteln, untersuchten wir auch das Verhalten der mechanischen Aktivität der V.portae in Inkubationslösungen, deren gesamter Natriumgehalt durch CaCl_2 isoosmotisch ersetzt wurde (Ca-94-Lösung).

Die fortlaufende Originalregistrierung (Abbildung 12) zeigt, daß es unmittelbar nach Austausch der normalen KREBS-Lösung gegen Ca-94-Lösung zu einer Relaxation der V.portae mit Sistieren der phasischen Kontraktionen kommt. Nach 7 - 10 Minuten setzt eine kontinuierlich anwachsende tonische Aktivität ein. Weitere 7-10 Minuten nach Beginn des tonischen Spannungsanstieges wird ein Maximum erreicht, welches annähernd doppelt so hoch ist wie das der maximalen phasischen Spontanrhythmik. Wird nach der Einstellung eines gewissen Spannungsplateaus der Austausch von Na^+ durch Ca^{++} wieder rückgängig gemacht (Wechsel von Ca-94- auf normale KREBS-Lösung), so kommt es zu einer sofortigen raschen vollständigen Relaxation der V.portae bis auf das Niveau des Basaltonus. Nach einer Latenz von etwa 10 Minuten setzen wieder rhythmische phasische Kontraktionen ein, deren Amplituden bald die der anfänglichen Norm erreichen bzw. übersteigen.

Nach wiederholtem Austausch der KREBS- gegen Ca-94-Lösung verkürzt sich die Latenz bis zum Auftreten des tonischen Spannungsanstieges auf 5 - 7 Minuten.

Verbleibt das Präparat nach Einstellung des Maximums der tonischen Aktivierung noch eine längere Zeit (Gesamtinkubationsdauer in Ca-94-Lösung 130 Minuten) in der Na-freien Ca-reichen Lösung, so kommt es mit Fortdauer der Inkubation nach

Durchlaufen eines steady state zu einem langsamen gleichmäßigen Abfall der tonischen Komponente. So wird nach 130 Minuten annähernd der Basaltonus erreicht.

Erfolgt der Wechsel der Inkubationslösung von Ca-94- auf KREBS-Lösung erst nach diesem langen Zeitraum, so ist die Reversibilität der normalen Spontanaktivität nicht mehr gegeben.

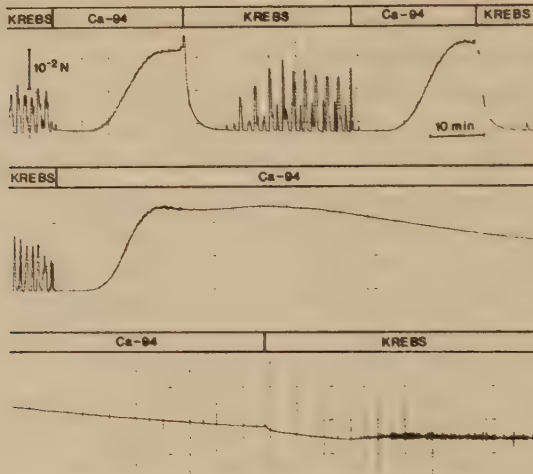


Abb. 12: Fortlaufende Originalregistrierung (oben, Mitte, unten) des Effekts eines isosmotischen Austausches des gesamten Natriums durch Calciumchlorid auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten *V. portae*.

4.4.2. Der Effekt von Natrium-freien Lösungen mit unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen auf die Spontanaktivität der *V. portae*

Mit Hilfe von Na-freien Lösungen, deren Ca^{++} -Konzentration zwischen 2,5 und 94 mmol/l variierte, wurde der Einfluß von extrazellulären Ca^{++} auf die Spontanaktivität der *V. portae* des Meerschweinchens untersucht.

Während in der Ca-94-Lösung das gesamte Natrium ausschließlich durch Calcium ersetzt wurde, blieb die Isotonie in den Lösungen mit einer geringeren Calciumkonzentration - 2,5; 16; 47 und 66 mmol/l - durch entsprechenden Saccharosezusatz gewahrt.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in der Abbildung 13 dargestellt. Es ist zu sehen, daß es nach Wechsel von normaler KREBS- auf Ca-2,5-Lösung zu einem sofortigen Übergang der phasischen in eine tonische Aktivität kommt. Nach einem initialen Spannungspeak und darauf folgenden halbmaximalem Tonusabfall steigt die tonische Komponente erneut bis zur Einstellung eines Maximums an. Im weiteren Untersuchungsverlauf kommt es zu einer geringfügigen Spannungsminderung (Abb. 13 A).

In Ca-16-Lösung setzt ebenfalls ein sofortiger, jedoch kontinuierlicher tonischer Spannungsanstieg ein, dessen Maximum bereits nach kurzer Zeit erreicht ist (Abb. 13 B).

Bei Inkubation der *V. portae* in Ca-47-Lösung (Abb. 13 C), in Ca-66-Lösung (Abb. 13 D) und in Ca-94-Lösung (Abb. 13 E) kommt es nicht zu einer sofortigen tonischen Aktivierung, sondern zu einer Relaxation der Präparate. Nach einer Latenzperiode, deren Dauer mit Höhe der Ca^{++} -Konzentration zunimmt, setzt die tonische Spontanaktivität ein.

Die bei der spontanen tonischen Aktivierung in den Ca-Lösungen erreichten maximalen Spannungen zeigen keine eindeutige Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration. In allen Lösungen kommt es nach Einstellung des Kontraktionsmaximums zu einem kontinuierlichen Spannungsabfall. Die Reversibilität der phasischen Kontraktionen in der darauf folgenden Inkubation in normaler KREBS-Lösung ist durch die relativ lange Inkubationsdauer (60 Minuten) in Na-freien Lösungen beeinträchtigt.

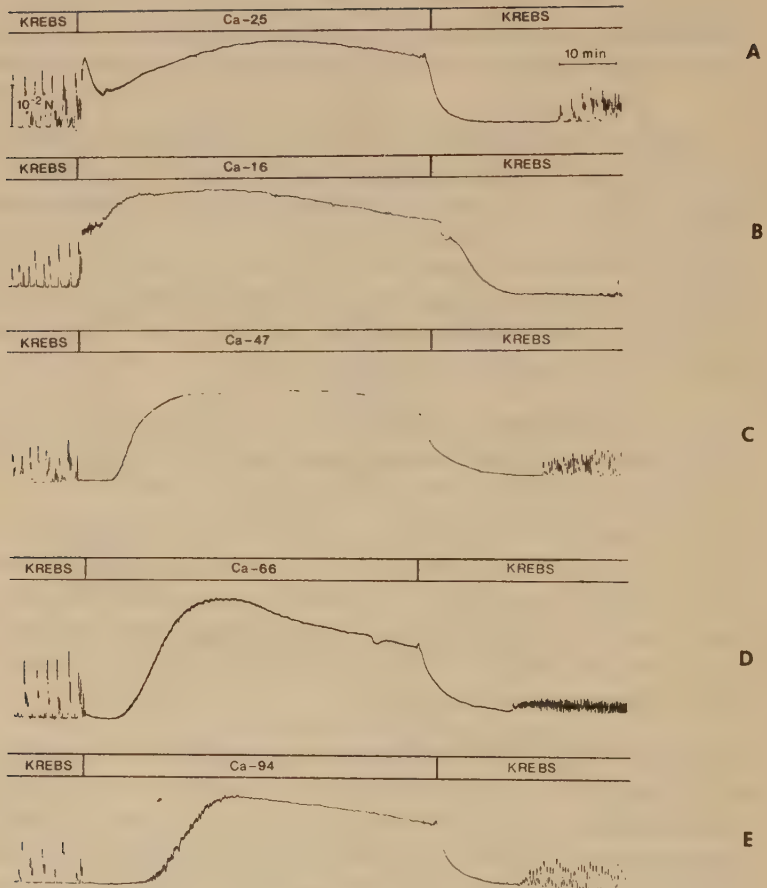


Abb. 13:

Originalregistrierungen des Effekts Na-freier Lösungen mit unterschiedlichen extrazellulären Calciumkonzentrationen auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae. (Zusammensetzung der Lösungen siehe S. 42)

A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66
E: in Ca-94.

4.4.3. Der Effekt einer Natriumchlorid-Applikation auf die in den verschiedenen Calcium-Lösungen entwickelte tonische Aktivität der V.portae

Nachdem wir festgestellt hatten, daß die V.portae des Meer-schweinchens in Natrium-freien Calcium-Lösungen eine in ihrem Verlauf für die jeweilige Ca^{++} -Konzentration charakteristische tonische Spannung entwickelt, untersuchten wir den Effekt einer Applikation steigender NaCl-Konzentrationen (3 - 27 mmol/l) auf die tonische Aktivität nach Einstellung des jeweiligen Maximums (Abbildung 14).

Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist zu erkennen, daß die Applikation von 3 mmol NaCl in allen Ca-Lösungen zu einer deutlichen Reduktion der tonischen Spannungskomponente führt. Dieser Effekt kann durch Steigerung der NaCl-Konzentration in der Inkubationslösung verstärkt werden, bis schließlich bei einem NaCl-Gehalt von 27 mmol/l in den Ca-Lösungen nur noch eine geringe tonische Spannung vorhanden ist.

Hier wird deutlich, daß der Effekt der NaCl-Applikation auf die tonische Aktivität der V.portae relativ unabhängig ist von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration, ähnlich wie es bereits bei der maximalen Spannungsentwicklung in den verschiedenen Ca-Lösungen aufgezeigt wurde.

Abb.: 14

Um die bei diesem Versuchsvorgehen auftretende Hyperosmolarität als Ursache für die in den Ca-Lösungen durch NaCl bedingte tonische Spannungsverminderung ausschließen zu können, prüften wir den alleinigen Effekt einer entsprechenden Hyperosmolarität auf die in Ca-2,5-Lösung entwickelte tonische Aktivität. Die Hyperosmolarität wurde durch Saccharose-Applikation (6; 18; 36 und 54 mmol/l) erzielt.

Es zeigte sich, daß die Saccharose das tonische Aktivitätsmuster der V.portae in Ca-2,5-Lösung in der Weise modifiziert, daß der normalerweise nach Erreichen des Maximums auftretende kontinuierliche und durch NaCl-Applikation forcierte Spannungs-

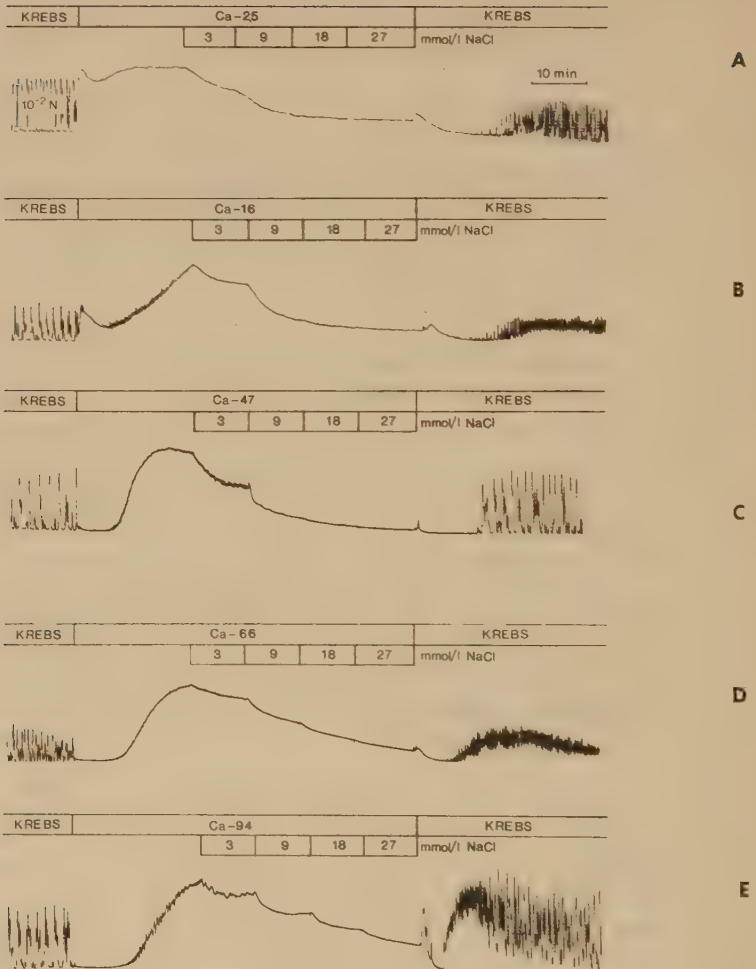


Abb. 14:

Originalregistrierungen des Effekts steigender NaCl-Applikationen (3-27 mmol/l) auf die in den verschiedenen Ca-Lösungen entwickelte isometrische mechanische tonische Aktivität der isolierten V.portae:

A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66;
E: in Ca-94.

abfall verhindert wird. Es entwickelt sich ein gleichmäßiges Spannungsplateau, das über den gesamten Applikationsbereich annähernd erhalten bleibt (Abbildung 15 B).

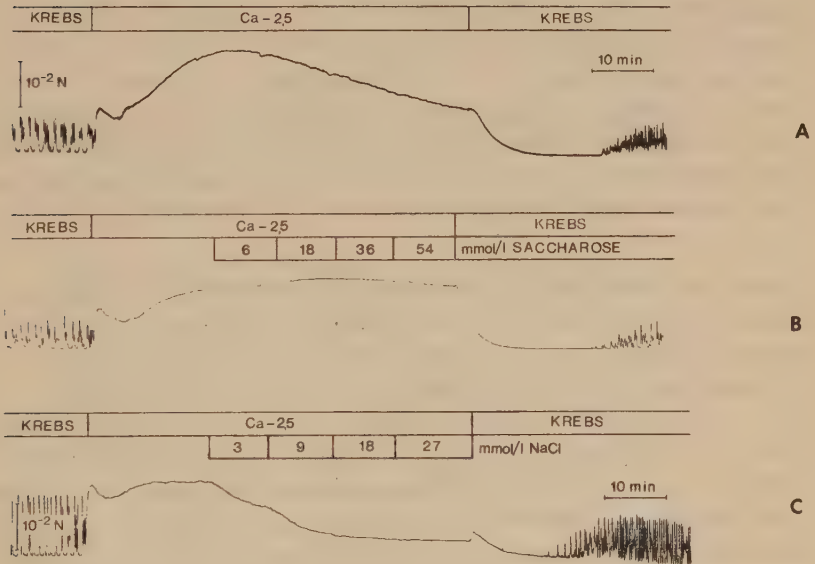


Abb. 15:

Originalregistrierungen der isometrischen mechanischen Spontanaktivität der isolierten V. portae in

- A: Ca-2,5-Lösung
- B: Ca-2,5-Lösung und der Effekt steigender Hyperosmolarität bedingt durch die Applikation von 6, 18, 36 und 54 mmol/l Saccharose
- C: Ca-2,5-Lösung und der Effekt steigender NaCl-Konzentrationen (3, 9, 18 und 27 mmol/l).

4.4.4. Der Effekt steigender Natriumchlorid-Konzentrationen in den verschiedenen Calcium-Lösungen auf die Spontanaktivität der V. portae

Aus den bisher dargelegten Ergebnissen geht hervor, daß es bei der V. portae des Meerschweinchens in Natrium-freien Calcium-Lösungen zu einer spontanen Spannungsentwicklung kommt. Diese weist zwar in ihrem Zeitverlauf, jedoch nicht in der erreichten Maximalhöhe eine Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration auf (Abbildung 13). Ferner konnte gezeigt werden, daß geringe NaCl-Applikationen nach Einstellung des Kontraktionsmaximums die tonische Aktivität deutlich vermindern können (Abbildung 14), und daß dies keinesfalls auf die dadurch bedingte Hyperosmolarität zurückzuführen ist (Abbildung 15).

Diese Resultate veranlaßten uns, den Effekt verschiedener NaCl-Konzentrationen (3, 9, 18 und 27 mmol/l) auf die sich in den Calcium-Lösungen entwickelnde mechanische Spontanaktivität zu untersuchen (Abbildung 16 Teil I bis IV). Bei der Inkubation der V. portae in den verschiedenen Calcium-Lösungen mit einem NaCl-Gehalt von 3 mmol/l zeichnet sich bereits sowohl auf den Zeitverlauf wie auf das Spannungsmaximum der spontanen tonischen Aktivierung ein hemmender Effekt des Natriumchlorid ab (Abbildung 16 Teil I bis IV). Dieser inhibierende Einfluß nimmt mit steigender NaCl-Konzentration in allen Calcium-Lösungen deutlich zu (Abbildung 16 II, III, IV). Zudem weist der durch NaCl vermittelte Hemmeffekt eine Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration auf. Er ist nach einer Inkubationszeit von 25 Minuten bei der Ca-16-Lösung für alle NaCl-Konzentrationen am stärksten und nimmt mit steigendem Calcium-Gehalt in den Lösungen ab (Abbildung 16 Teil IV).

In der Ca-2,5-Lösung jedoch vermögen 27 mmol/l NaCl den nur in dieser Lösung auftretenden und bereits beschriebenen (S. 66) initialen Spannungsspeak zwar zu reduzieren, aber nicht vollständig aufzuheben (Abbildung 16 Teil III A). Die in KREBS-Lösung reinkubierten Präparate zeigen eine erhöhte phasische

Spontanrhythmik, die um so ausgeprägter ist, je höher die vorhergehende NaCl-Konzentration in den Calcium-Lösungen war.

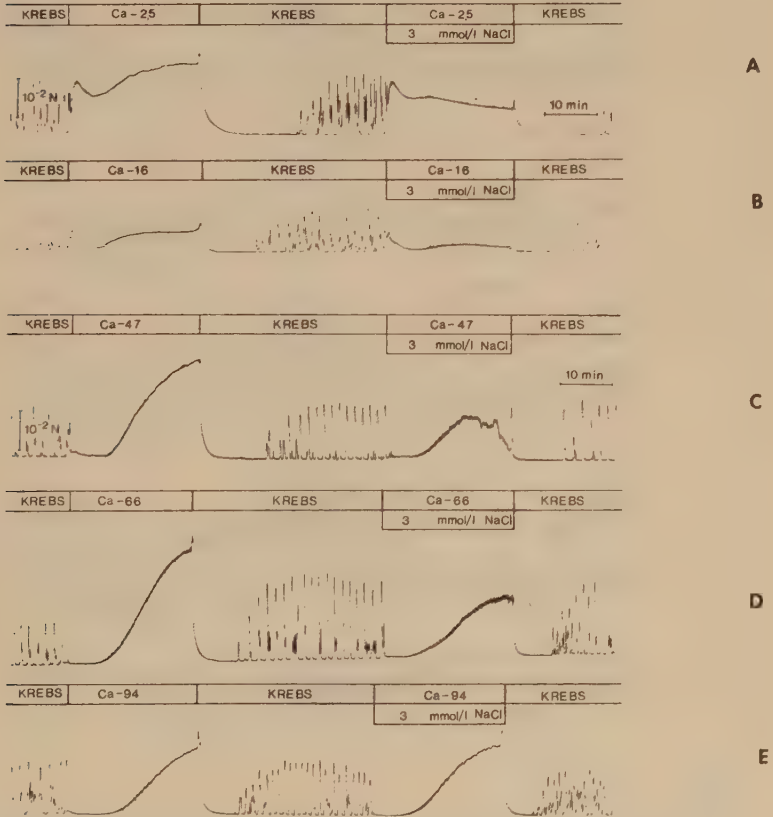


Abb. 16 Teil I:

Originalregistrierungen des Effekts von 3 mmol/l NaCl in den verschiedenen Ca-Lösungen auf die sich entwickelnde isometrische mechanische tonische Aktivität der isolierten V.por-tae:

A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66;
E: in Ca-94.

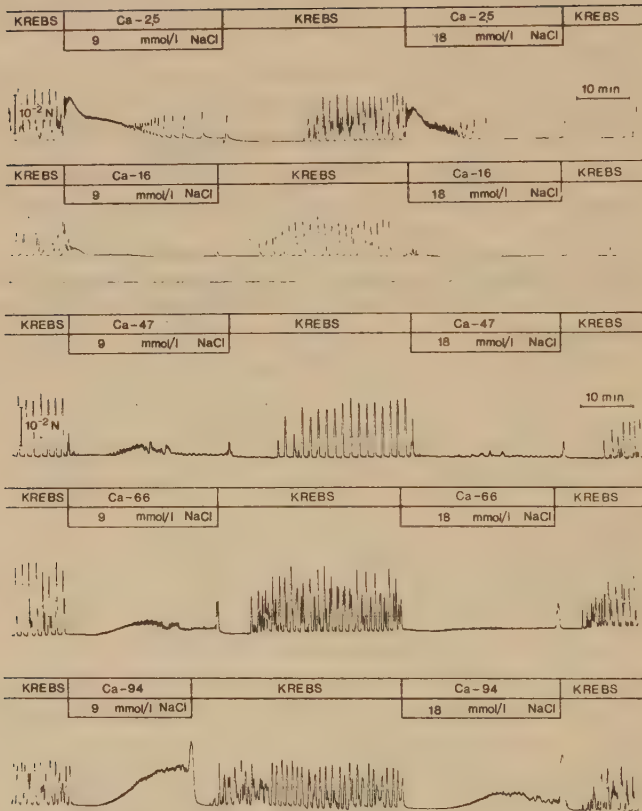


Abb. 16 Teil II:

Originalregistrierungen des Effekts von 9 und 18 mmol/l NaCl in den verschiedenen Ca-Lösungen auf die sich entwickelnde isometrische mechanische tonische Aktivität der isolierten *V. portae*:

A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66; E: in Ca-94.

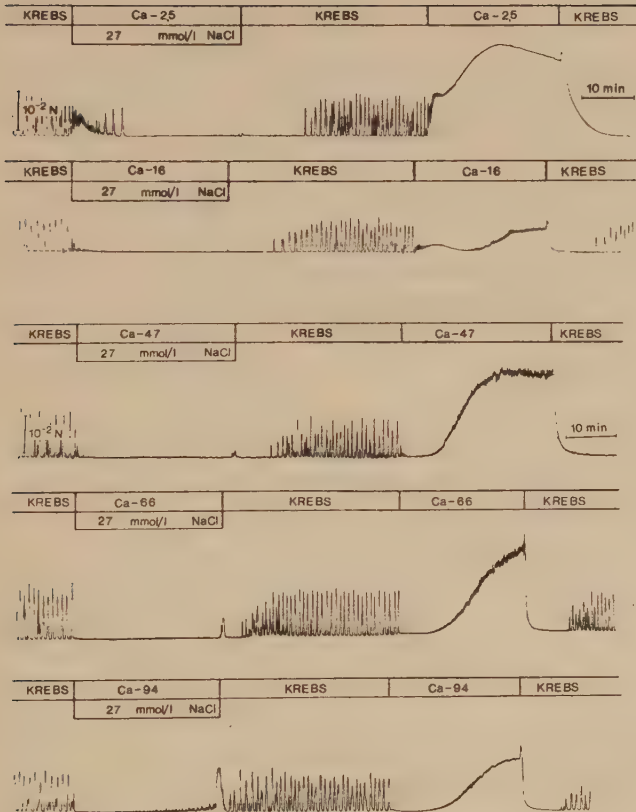


Abb. 16 Teil III:

Originalregistrierungen des Effekts von 27 mmol/l NaCl in den verschiedenen Ca-Lösungen auf die sich entwickelnde isometrische mechanische tonische Aktivität der isolierten V. portae:

A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66;
E: in Ca-94.

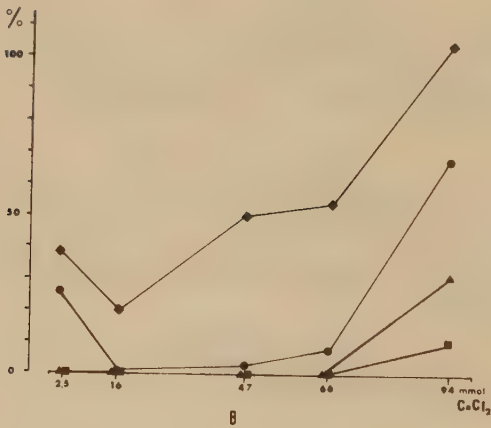
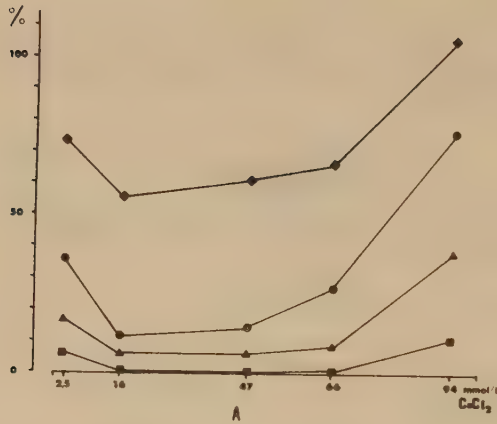


Abb. 16 Teil IV:

Graphische Darstellung des Effekts steigender NaCl-Konzentrationen auf die sich in den verschiedenen Calcium-Lösungen (Abszisse) entwickelnde isometrische mechanische tonische Aktivität in % der sich in Natrium-freien Calcium-Lösungen entwickelnden Spannung (Ordinate) der isolierten V.portae.

A: 12,5 Minuten nach Inkubationsbeginn in NaCl-haltiger Ca-Lösung
 B: 25 Minuten nach Inkubationsbeginn in NaCl-haltiger Ca-Lösung
 3 mmol/l NaCl (◆); 9 mmol/l NaCl (●); 18 mmol/l NaCl (▲);
 27 mmol/l NaCl (■).

4.5. DER EFFEKT DER LOKALANAESTHETIKA, DES TOCAINID, DES SPEZIFISCHEN CALCIUM-ANTAGONISTEN NIFEDIPIN UND DER CALCIUM-IONOPHORE A23187 AUF DIE MECHANISCHE AKTIVITÄT DER V. PORTAE

4.5.1. Der Effekt der Lokalanaesthetika Mepivacain und Prilocain und des Antiarrhythmikums Tocainid auf die Spontanaktivität der V. portae

Aufbauend auf früher durchgeführten Studien über den Effekt von Procain, Lidocain und Tetracain (143, 241), untersuchten wir auch die Wirkung der Lokalanaesthetika Mepivacain und Prilocain sowie des als Antiarrhythmikum eingesetzten Lidocain-Abkömmlings Tocainid auf die mechanische Aktivität der V. portae des Meerschweinchens.

Die Verbindungen Bupivacain und Etidocain, die ebenfalls eine große klinische Bedeutung als Lokalanaesthetika haben, konnten in den von uns durchgeführten Experimenten nicht berücksichtigt werden. Sie erwiesen sich in Voruntersuchungen in dem von uns gewählten oberen Konzentrationsbereich als nicht vollständig löslich in den eingesetzten Inkubationsmedien. Die Ergebnisse über den Effekt von Mepivacain, Prilocain und Tocainid in den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-2} mol/l auf die mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae sind in der Abbildung 17 dargestellt.

Es ist zu sehen, daß die untersuchten Substanzen in Abhängigkeit von ihren Konzentrationen das für die V. portae in normaler KREBS-Lösung typische phasische Aktivitätsmuster komplex modifizieren.

So stimuliert Mepivacain im niedrigen Dosierungsbereich (10^{-6} - 10^{-4} mol/l) die phasische Aktivität. 10^{-4} bis 10^{-3} mol/l führen zu einer starken Frequenzzunahme der phasischen Kontraktionen bei gleichzeitigem tonischen Spannungsanstieg. Bei weiterer Konzentrationserhöhung kommt es zu einem Sistieren der phasischen Kontraktionen bei erhöhter tonischer Spannung.

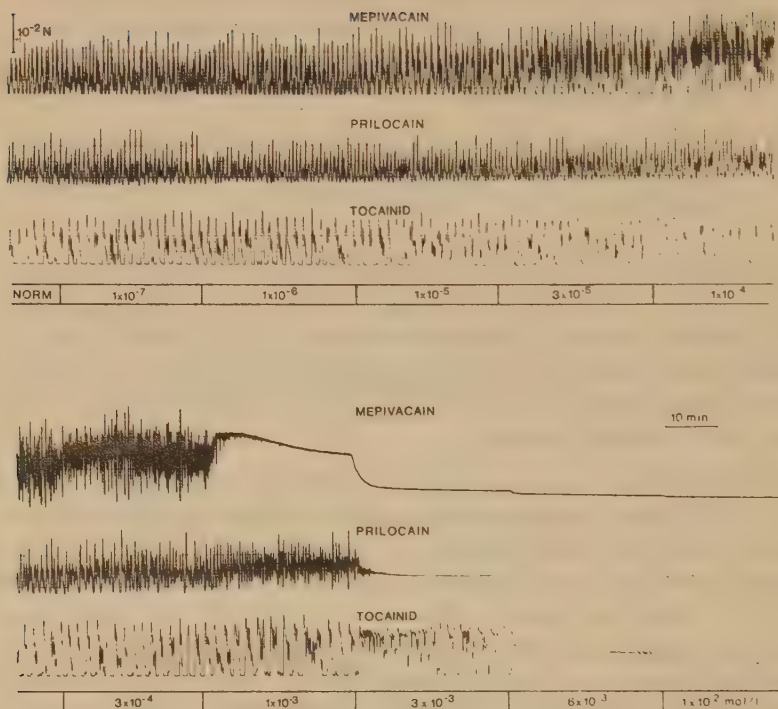


Abb. 17: Fortlaufende Originalregistrierungen (oben und unten) des Effekts von Mepivacain, Prilocain und Tocainid (10^{-7} - 10^{-2} mol/l) auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae.

Im hohen Dosierungsbereich (ab 3×10^{-3} mol/l) bewirkt Mepivacain eine vollständige Unterdrückung der phasischen und tonischen Aktivität.

Prilocain verursacht im niedrigen Konzentrationsbereich (10^{-6} - 10^{-4} mol/l) eine geringe Frequenzsteigerung der phasischen Aktivität. Dieser Effekt nimmt dann bis 3×10^{-3} mol/l weiter zu, wobei es zusätzlich zu einer mäßigen tonischen Aktivierung kommt. Ab einer Konzentration von 3×10^{-3} mol/l bedingt Pri-

locain ein vollständiges Erliegen der phasischen Kontraktionen; eine minimale tonische Spannungskomponente bleibt bis einschließlich einer Konzentration von 10^{-2} mol/l bestehen. Tocainid potenziert im Dosierungsbereich 3×10^{-4} bis 3×10^{-3} mol/l die phasische Aktivität der V.portae. In höherer Konzentration unterdrückt es die phasische Komponente bei gleichzeitiger Induktion einer später rein tonischen Aktivität, die durch 10^{-2} mol/l Tocainid wieder deutlich reduziert wird. Bei der Reinkubation der V.portae in KREBS-Lösung am Ende des Versuches stellt sich bei allen Präparaten rasch wieder die normale Spontanrhythmik ein.

4.5.2. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität der V.portae in Abhängigkeit von der extrazellulären Calcium-Konzentration

Um den Einfluß der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf den Effekt der Lokalanaesthetika - Procain, Lidocain, Tetracain, Mepivacain, Prilocain - und des Antiarrhythmikums Tocainid zu prüfen, untersuchten wir die Wirkung dieser Substanzen bei Variation der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (nominell 0; 0,25; 0,75; 1,5; 2,5; 5,0 und 7,5 mmol/l). Die Substanzen wurden dabei jeweils in einer Dosierung appliziert, die zu einer deutlichen Hemmung der rhythmischen Spontanaktivität der V.portae in normaler KREBS-Lösung führt. Hierbei ergab sich für Tetracain eine Konzentration von 10^{-3} , für Lidocain, Mepivacain und Prilocain von 3×10^{-3} und für Procain und Tocainid von 10^{-2} mol/l.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Abbildung 18 dargestellt.

Aus dem Teil A der Abbildung ist der alleinige Effekt der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf die Spontanaktivität der V.portae ersichtlich:

Eine Reduzierung der Ca^{++} -Konzentration auf 10^{-5} mol/l (nominell-0) in der Inkubationslösung führt zu einem völligen Sistieren der Spontanaktivität der V.portae. Bei schrittweiser

Erhöhung des CaCl_2 -Gehaltes der KREBS-Lösung kommt es bei einer Ca^{++} -Konzentration von 0,75 mmol/l zum erneuten Auftreten der mechanischen rhythmischen Kontraktionen, wobei die anfangs relativ kleine Amplitude mit zunehmender Ca^{++} -Konzentration anwächst und schließlich bei einem Ca^{++} -Gehalt von 2.5 mmol/l ihr Maximum erreicht. Eine weitere Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration hat ab 7,5 mmol/l CaCl_2 eine Abnahme der Amplitudenhöhe der phasischen Kontraktionen zur Folge.

Aus den Originalregistrierungen (Abbildung 18 B, C, D, E, F, G) ist zu erkennen, daß lediglich Tetracain in der gewählten Konzentration zu einer vollständigen Relaxation der V.portae in der KREBS-Lösung (2,5 mmol/l CaCl_2) führt.

Alle übrigen Verbindungen induzieren in der gewählten Dosierung eine mehr oder weniger stark ausgeprägte tonische Aktivität. In nominell Ca-freier KREBS-Lösung kommt es bei Anwesenheit der untersuchten Substanzen zu dem normalerweise durch Ca-Entzug bedingten Erliegen der mechanischen Spontanaktivität. Die sonst bei 0,25 mmol/l CaCl_2 in der Inkubationslösung einsetzende tonische Aktivierung der V.portae wird durch alle Substanzen verhindert. Die Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf 0,75 mmol/l hat lediglich bei Anwesenheit von Procain, Lidocain und Prilocain die Induktion einer geringen tonischen Spannung zur Folge; bei Mepivacain und Tocainid tritt diese erst bei 1,5 mmol/l auf. Bei Procain, Lidocain und Prilocain hat die tonische Spannungskomponente in KREBS-Lösung mit einem Ca-Gehalt von 1,5 mmol/l eine deutliche Größe erreicht.

Das Maximum der mechanischen Spontanaktivität, das sich normalerweise bei einer CaCl_2 -Konzentration von 2,5 mmol/l einstellt, wird bei Anwesenheit von Procain, Mepivacain, Prilocain und Tocainid erst bei 7,5 mmol/l Calcium erzielt. Die jetzt zu beobachtende starke tonische Aktivierung wird von einer mehr oder weniger ausgeprägten phasischen Komponente überlagert.

Bei Lidocain-Anwesenheit hat die tonische Spannungskomponente noch nicht ihr Maximum erreicht.

Der durch Tetracain (10^{-3} mol/l) bedingte inhibitorische Effekt auf die Spontanaktivität kann selbst durch 7,5 mmol/l CaCl_2 in der KREBS-Lösung nicht aufgehoben werden.

Nach Beendigung der Substanz-Applikation kommt es außer nach Tetracain-Anwesenheit in normaler KREBS-Lösung (2,5 mmol/l CaCl_2) bei allen Präparaten zu einer vorübergehenden starken Aktivierung der phasischen Spontanrhythmik.

Die bisher dargelegten Untersuchungsergebnisse, die eine deutliche Abhängigkeit der Lokalanaesthetika-Wirkung auf die Spontanaktivität von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration erkennen lassen, veranlaßten uns, identische Versuche mit Mepivacain, Prilocain und Lidocain in höheren Dosierungen (10^{-2} bzw. 6×10^{-3} mol/l) durchzuführen (Abbildung 19).

Während eine hohe CaCl_2 -Konzentration von 5,0 mmol/l bei Mepivacain und Prilocain noch eine geringe tonische Aktivierung erzielte, konnte die durch 6×10^{-3} mol/l Lidocain induzierte Hemmung der Spontanaktivität durch hohe Ca^{++} -Konzentrationen nicht mehr antagonisiert werden.

Vergleicht man die sechs untersuchten Substanzen bezüglich ihrer hemmenden Wirkung auf die mechanische Spontanaktivität der V.portae, so zeigt sich, daß die inhibitorische Potenz in der Reihenfolge vom Tetracain, Lidocain, Mepivacain, Prilocain, Tocainid bis zum Procain abnimmt, wobei die drei letztgenannten Substanzen annähernd gleiche Wirkstärke haben.

Um auch den Einfluß der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf die stimulierende Wirkung der Lokalanaesthetika Mepivacain und Prilocain, sowie des Antiarrhythmikums Tocainid auf die Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens zu ermitteln, wurden bei identischem Versuchsablauf die oben genannten Verbindungen in ihrer potenzierenden Konzentration von 3×10^{-4} mol/l bei Variation des extrazellulären CaCl_2 -Gehaltes untersucht (Abbildung 20).

Die Originalregistrierungen zeigen, daß es bei 0,75 mmol/l CaCl_2 in der KREBS-Lösung bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain und Tocainid zur Induktion einer tonischen Spannungskomponente kommt, die von einer hochfrequenten phasischen Aktivität überlagert ist. Wie aus einer vergleichenden Kontrollaufzeichnung (Abbildung 18 A) hervorgeht, vermögen 0,75 mmol/l CaCl_2 auch bei Abwesenheit der Substanzen eine phasische Aktivität zu induzieren, die jedoch nicht mit einem tonischen Spannungsanstieg einhergeht. Eine weitere Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration in der Substanz-haltigen KREBS-Lösung führt zu einem Abfall der tonischen Spannung auf die Norm und zur Erhöhung der phasischen Kontraktionsamplituden. Bei einem CaCl_2 -Gehalt von 2,5 mmol/l, der dem in normaler KREBS-Lösung entspricht, ist die mechanische Spontanaktivität bei Abwesenheit der untersuchten Substanzen sowohl in Frequenz als auch in Amplitudenhöhe gegenüber der Norm deutlich verstärkt. In 7,5 mmol/l CaCl_2 -haltiger KREBS-Lösung liegen die Kontraktionsamplituden bei allen Präparaten um rund 50 % höher als die der anfänglichen Norm.

Die Ergebnisse dieses Untersuchungsabschnittes zeigen, daß sowohl der stimulierende als auch der hemmende Effekt der eingesetzten Pharmaka auf die mechanische Spontanaktivität der *V. portae* eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration aufweist.

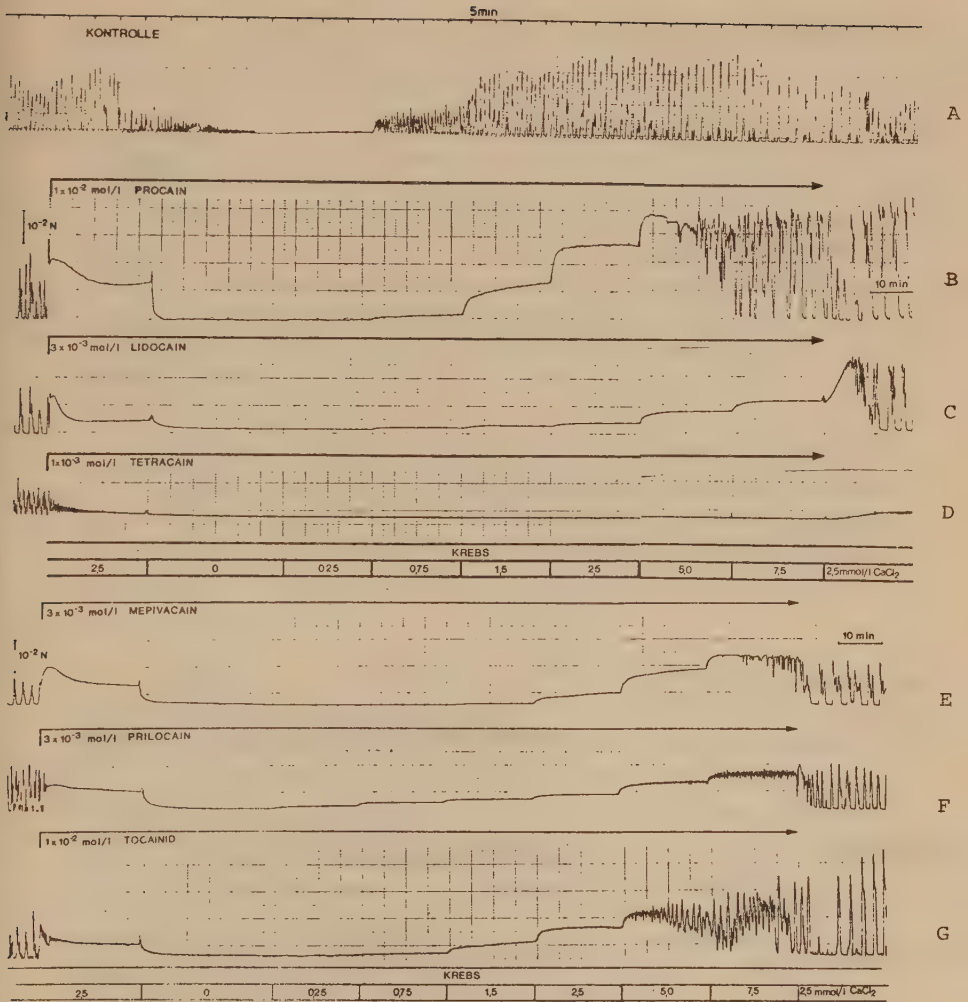


Abb. 18:

Originalregistrierungen des Effekts der Lokalanästhetika und des Tocainid auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca⁺⁺-Konzentration:

A: Norm; B: Procain (10^{-2} mol/l); C: Lidocain (3×10^{-3} mol/l); D: Tetracain (10^{-3} mol/l); E: Mepivacain (3×10^{-3} mol/l); F: Prilocain (3×10^{-3} mol/l); G: Tocainid (10^{-2} mol/l).

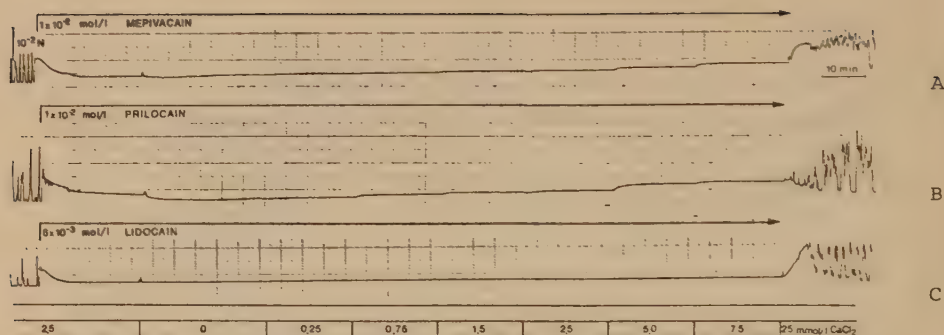


Abb. 19:

Originalregistrierungen des Effekts der Lokalanästhetika und des Tocainid auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration:

A: Mepivacain (10^{-2} mol/l); B: Prilocain (10^{-2} mol/l)
C: Lidocain (6×10^{-3} mol/l).

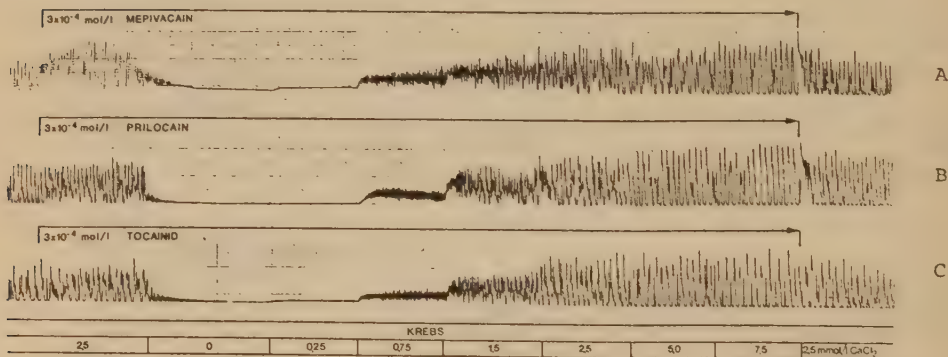


Abb. 20:

Originalregistrierungen des Effekts der Lokalanästhetika und des Tocainid auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration:

A: Mepivacain (3×10^{-4} mol/l); B: Prilocain (3×10^{-4} mol/l)
C: Tocainid (3×10^{-4} mol/l).

4.5.3. Der Effekt des spezifischen Calcium-Antagonisten Nifedipin und der Calcium-Ionophore A 23187 auf die Spontanaktivität der V.portae

Um den Effekt der Calcium-antagonistischen Wirkung der Lokalanaesthetika und des Antiarrhythmikums Tocainid auf die Spontanaktivität eindeutiger spezifizieren zu können, untersuchten wir auch den Effekt von Nifedipin (Adalat^R) und der Ionophore A 23187 auf die Spontanaktivität der isolierten Portalvene des Meerschweinchens. Die Ergebnisse der Untersuchungen (Abbildung 21 A) zeigen, daß es nach Applikation von Nifedipin in einer Konzentration von 10^{-9} - 3×10^{-9} mol/l zu einer Zunahme von Amplitude und Dauer der phasischen Kontraktionen kommt. Die Amplitude wird dabei um etwa 30 % erhöht. Höhere Konzentrationen Nifedipin (über 10^{-8} mol/l) führen zu einer zunehmenden Reduzierung der Amplitude bei gleichzeitiger vorübergehender Frequenzsteigerung der phasischen Aktivität der V.portae. 10^{-7} mol/l Nifedipin unterdrücken schließlich die phasischen Kontraktionen vollständig.

Die Ionophore A 23187 (Abbildung 21 B) hat in einer Konzentration von 10^{-8} mol/l in normaler KREBS-Lösung eine geringfügige Potenzierung der phasischen Kontraktionen - sowohl der Amplitude als auch der Frequenz - zur Folge. Während sich die Frequenz durch eine Steigerung der Ionophore-Konzentration noch weiter verstärken läßt, nimmt die Amplitudenhöhe ab. Bei einer Dosierung von $3-5 \times 10^{-6}$ mol/l ist ein Maximum der Wirkung der Ionophore auf die V.portae des Meerschweinchens erreicht. Dieses zeichnet sich durch eine tonische Spannungszunahme mit überlagerter hochfrequenter phasischer Spontanaktivität aus.

Um eine Abhängigkeit der Ionophore-Wirkung von der extrazellulären Calcium-Konzentration zu überprüfen, wurde ihr Einfluß auf die mechanische Aktivität der V.portae sowohl in Na-freiem als auch im Inkubationsmedium mit unterschiedlichem Calcium-Gehalt (nominell 0 bis 2,5 mmol/l CaCl_2) untersucht (Abb. 21 C und D).

Wird die Ionophore in steigender Konzentration (10^{-8} bis 3×10^{-6} mol/l) nach Einstellung des normalerweise in Natrium-freier KREBS-Lösung auftretenden tonischen Spannungsmaximums appliziert, so zeichnet sich keine eindeutige Änderung des charakteristischen Spannungsverlaufes der V.portae in Ca-2,5-Lösung ab. Ein durch die Ionophore vermittelter Spannungszuwachs unter diesen Bedingungen kann mit Sicherheit ausgeschlossen werden (Abb. 21 C).

In nominell Ca-freier Lösung bleibt die V.portae auch bei Anwesenheit der Ionophore A 23187 in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l in relaxiertem Zustand. Bei einem Calcium-Gehalt von 0,25 mmol/l induziert die Ionophore eine mäßige tonische Aktivität, die bei Abwesenheit der Ionophore nicht konstatiert werden kann. 0,75 mmol/l CaCl_2 , die normalerweise das Einsetzen einer phasischen Aktivität bedingen, haben bei Ionophore-Anwesenheit einen etwa halbmaximalen tonischen Spannungsanstieg mit überlagerter hochfrequenter phasischer Aktivität zur Folge. Die Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf den normalen Gehalt von 2,5 mmol/l bewirkt die bereits oben beschriebene Umwandlung der phasischen Aktivität der Präparate in eine erhöhte tonische Spannung mit überlagerten hochfrequenten phasischen Kontraktionen (Abbildung 21 D). Die durch die Ionophore (5×10^{-6} mol/l) induzierte tonische und phasische Aktivierung der V.portae in normaler KREBS-Lösung kann durch Nifedipin in einer Konzentration von 10^{-7} mol/l nicht nur aufgehoben werden, sondern es kommt auch hier durch Nifedipin zur vollständigen Blockade der Spontanaktivität (Abbildung 21 F).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, daß der stimulierende Effekt der Ionophore auf die mechanische Aktivität der V.portae eine starke Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration aufweist. Die Ionophore ist nicht in der Lage, eine Spannungsentwicklung in nominell Ca-freier Lösung zu induzieren bzw. in Na-freier KREBS-Lösung eine Spannungserhöhung nach Überschreitung des Maximums auszulösen. Der Ionophore-Effekt ist durch den spezifisch wirkenden Ca-

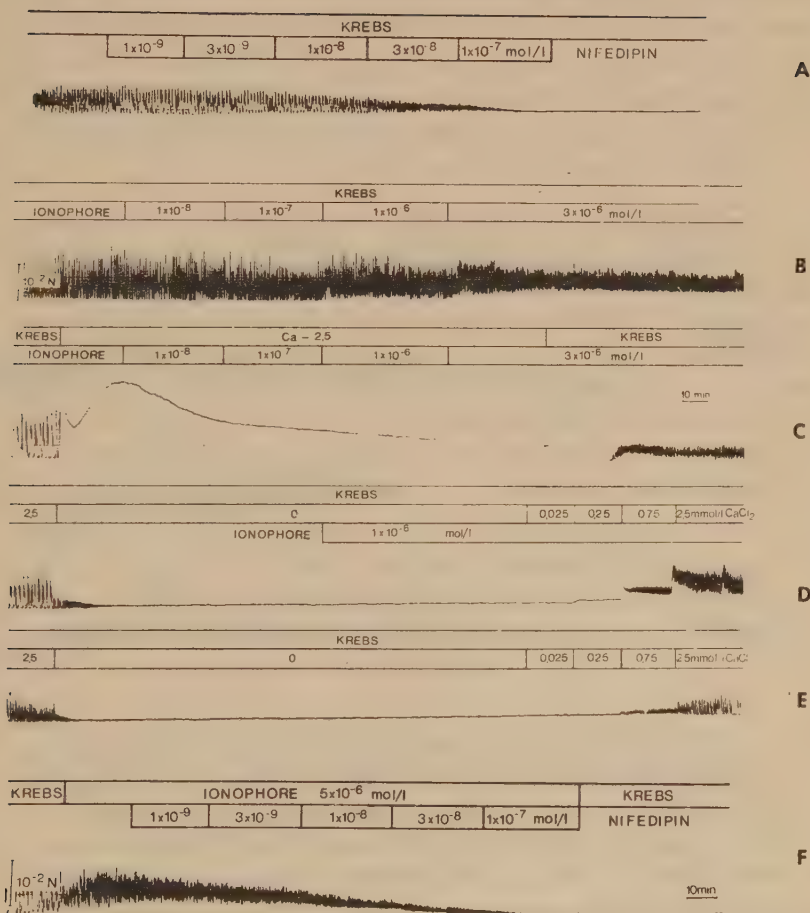


Abb. 21:

Originalregistrierungen des Effekts von Nifedipin und der Ionophore auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae:

- A: der Effekt von Nifedipin (10^{-9} - 10^{-7} mol/l) in KREBS-Lösung
 B: der Effekt der Ionophore (10^{-8} - 3×10^{-6} mol/l) in KREBS-Lösung
 C: der Effekt der Ionophore (10^{-8} - 3×10^{-6} mol/l) in Na-freier KREBS-Lösung
 D: der Effekt der Ionophore (10^{-6} mol/l) in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration
 E: der Effekt der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration in KREBS-Lösung
 F: der Effekt von Nifedipin (10^{-9} - 10^{-7} mol/l) bei Anwesenheit der Ionophore (5×10^{-6} mol/l) in KREBS-Lösung.

Antagonisten Nifedipin aufhebbar, ohne daß dessen Dosis-abhängige Wirkung eindeutig beeinflußt wird, was bei einem Vergleich der Zeilen A und F der Abbildung 21 ersichtlich ist.

4.5.4. Der Effekt von Procain, Tetracain und Tocainid auf die Spontanaktivität der V. portae bei Anwesenheit der Ionophore

In einer weiteren Aufgabenstellung untersuchten wir den Effekt steigender Konzentrationen der Lokalanaesthetika Procain und Tetracain und des Antiarrhythmikums Tocainid auf die durch 5×10^{-6} mol/l Ionophore A 23187 charakteristisch veränderte Spontanaktivität der V. portae. Dabei sollte eine mögliche Interaktion zwischen der Ionophore und den Lokalanaesthetika bzw. dem Tocainid am Calcium-Aktivierungsmechanismus geklärt werden, der sich in einer Änderung der mechanischen Kraftentwicklung ausdrückt.

Aus den Originalregistrierungen der Abbildung 22 geht hervor, daß die durch die Ionophore bedingte charakteristische Aktivierung der Spontankontraktionen der V. portae durch die untersuchten Substanzen in den Konzentrationen, die auch normalerweise zu einer Stimulierung führen, weiter gesteigert werden.

Der durch höhere Konzentrationen von Procain, Tetracain und Tocainid normalerweise vermittelte Hemmeffekt auf die Spontarrhythmik der V. portae wird bei Anwesenheit der Ionophore bereits in einer weniger hohen Dosierung erreicht. So ist die durch 10^{-2} mol/l Procain und Tocainid induzierte, sonst unvollständige Hemmung der mechanischen Kraftentwicklung bei Anwesenheit von 5×10^{-6} mol/l Ionophore vollständig.

Ein Sistieren der phasischen Aktivität durch Tetracain wird ohne Ionophore bei 10^{-3} mol/l, in Ionophore-haltiger KREBS-Lösung bereits bei einer Tetracain-Konzentration von 3×10^{-4} mol/l erreicht.

Aus diesen Untersuchungsergebnissen ist ersichtlich, daß so-

wohl der stimulierende wie der inhibierende Effekt der Lokalanästhetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität der V. portae des Meerschweinchens durch die Ionophore A 23187 verstärkt wird. Eine Aufhebung des von Procain, Tetracain und Tocainid bedingten Hemmeffektes durch die Ionophore kann auf alle Fälle ausgeschlossen werden.

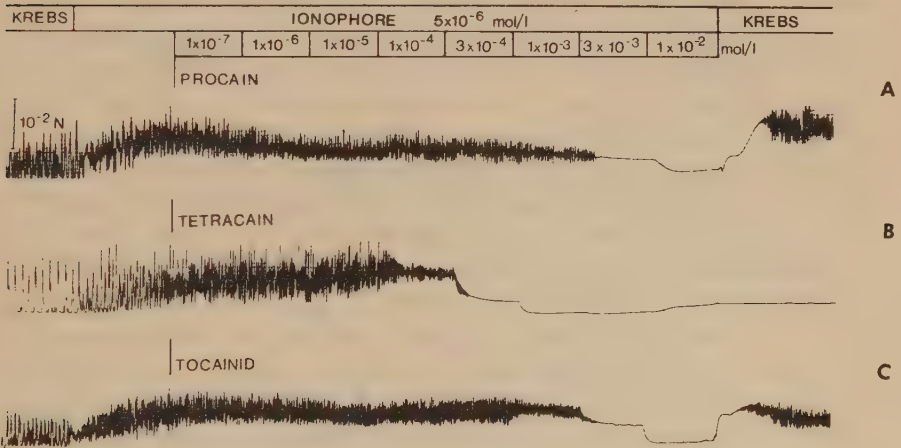


Abb. 22: Originalregistrierungen des Effekts von Procain (A), Tetracain (B) und Tocainid (C) in Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-2} mol/l auf die durch die Ionophore A 23187 (5×10^{-6} mol/l) in KREBS-Lösung veränderte isometrische mechanische Aktivität der isolierten V. portae.

4.5.5. Der Effekt von Nifedipin, Tetracain und Lidocain auf die in Natrium-freier Calcium-Lösung auftretende Spontanaktivität der V.portae

In dieser Versuchsreihe sollte geklärt werden, in welchem Maße die Wirkung der oben genannten Verbindungen auf die Spontanaktivität der V.portae vom Na/Ca-Verhältnis in der Inkubationslösung beeinflusst wird (Abbildung 23, 24).

Wird Nifedipin, eine spezifisch den Ca^{++} -Flux der Membran hemmende Substanz, nach der Einstellung des Kontraktionsmaximums der isolierten V.portae in Ca-2,5-Lösung in steigender Dosierung (10^{-8} bis 10^{-6} mol/l) appliziert, so kommt es lediglich zu einer minimalen Ausbildung des normalerweise auftretenden tonischen Spannungsabfalls. Eine Nifedipin-Konzentration von 10^{-6} mol/l, die in normaler KREBS-Lösung unmittelbar zu einer vollständigen Unterdrückung der Spontanaktivität führt, hat in Ca-2,5-Lösung keinen vergleichbaren Hemmeffekt auf die tonische Spannungskomponente der V.portae. Die bei dieser Konzentration noch bestehende tonische Kraft in Ca-2,5-Lösung ist gegenüber der Norm bei gleichem Zeitverlauf keinesfalls signifikant verändert (Abb. 23 A, B). Das bezüglich seiner inhibitorischen Potenz auf die mechanische Aktivität der V.portae stärkste Lokalanaesthetikum Tetracain vermag ab einer Konzentration von 10^{-3} mol/l eine vollständige Relaxation des Präparates in Ca-2,5-Lösung auszulösen (Abb. 23 C). Dies wird auch in normaler KREBS-Lösung durch eine aequimolare Tetracain-Konzentration beobachtet.

Lidocain dagegen benötigt eine höhere Konzentration (10^{-2} mol/l), um eine Reduzierung der tonischen Spannungskomponente in Ca-2,5-Lösung zu induzieren, ohne diese jedoch vollständig aufheben zu können. Untersucht man den Lidocain-Effekt unter Variation des extrazellulären Calcium-Gehaltes in Natrium-freien Lösungen (Ca-16; Ca-47; Ca-66 und Ca-94), so kann eine geringe Abhängigkeit der Lidocain-Wirkung vom CaCl_2 -Gehalt des Inkubationsmediums festgestellt werden. Bei einer Lidocain-Konzentration von 10^{-2} mol/l, die normalerweise in KREBS-Lö-

sung zu einer vollständigen Relaxation des Präparates führt, bleibt bei einem höheren extrazellulären Calcium-Gehalt in Natrium-freien Lösungen noch eine etwa halbmaximale tonische Spannungskomponente bestehen (Abb. 24).

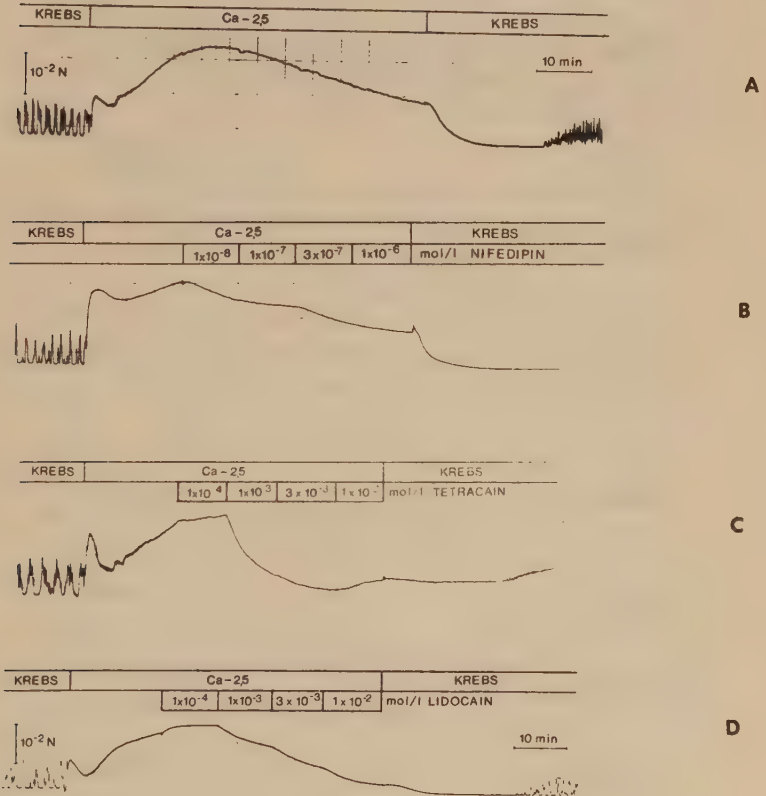


Abb. 23:

Originalregistrierungen des Effekts von Nifedipin, Tetracain und Lidocain auf die in Ca-2,5-Lösung auftretende isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae:

A: Spontanaktivität in KREBS und Ca-2,5

B: Effekt von Nifedipin (10⁻⁸ - 10⁻⁶ mol/l) in Ca-2,5

C: Effekt von Tetracain (10⁻⁴ - 10⁻² mol/l) in Ca-2,5

D: Effekt von Lidocain (10⁻⁴ - 10⁻² mol/l) in Ca-2,5

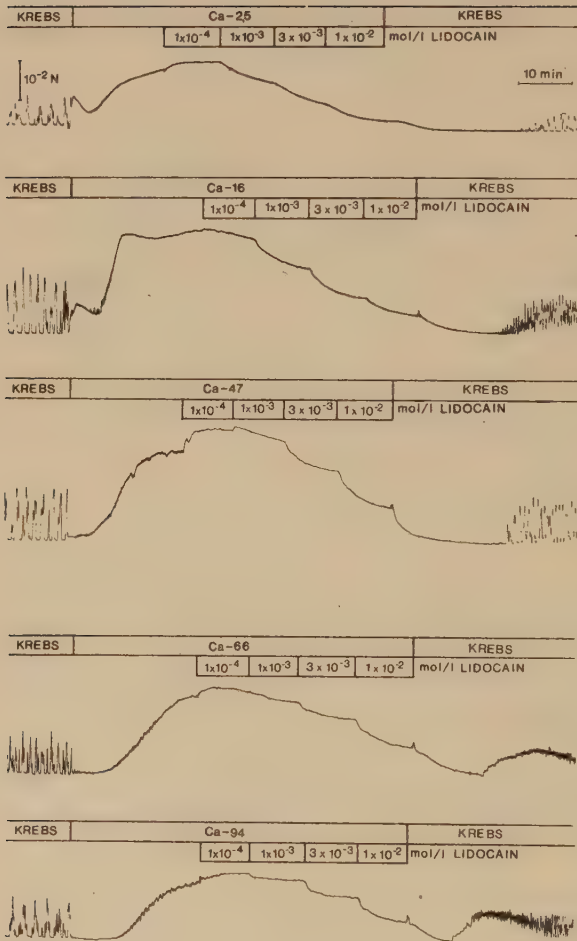


Abb. 24:

Originalregistrierungen des Effekts von Lidocain (10^{-4} - 10^{-2} mol/l) auf die in verschiedenen Ca-Lösungen auftretende isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten *V. portae*: A: in Ca-2,5; B: in Ca-16; C: in Ca-47; D: in Ca-66; E: in Ca-94

4.5.6. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität der V.portae in Ca-2,5- und Ca-94-Lösung

Nachdem eindeutig nachgewiesen werden konnte, daß die lokal-anaesthetisch wirkenden Verbindungen im Gegensatz zum spezifischen Ca-Antagonisten Nifedipin den Verlauf der tonischen Spannungsentwicklung in Ca-2,5-Lösung nach Einstellung des normalen Maximums beeinflussen, untersuchten wir auch ihre Wirkung auf den gesamten Verlauf der Spontanaktivität in KREBS-, in Ca-2,5- und Ca-94-Lösung.

Die V.portae wurde wechselweise in normale KREBS-Lösung und Calcium-Lösung unter ständiger Anwesenheit steigender Lokalanaesthetika- bzw. Tocainid-Konzentrationen (10^{-6} bis 10^{-2} mol/l) inkubiert. Die Inkubationsdauer in den einzelnen Lösungen betrug dabei in KREBS- 40 Minuten und in den Calcium-Lösungen 25 Minuten. Aus den Originalregistrierungen wurde die Latenz bis zum Auftreten der Spontanaktivität (bei Ca-94) sowie die Höhe der in Calcium-Lösungen auftretenden tonischen Spannungskomponente nach 12,5 und 25 Minuten ermittelt und tabellarisch zusammengestellt (Tabelle 1 und 2). Es zeigt sich, daß die untersuchten Substanzen in Ca-2,5-Lösung zu einer Verstärkung der Anstiegssteilheit der Spontanaktivität der V.portae führen (Tabelle 1).

Während die maximale tonische Spannungsentwicklung in Ca-2,5-Lösung ohne Anwesenheit der untersuchten Verbindungen mit der Anzahl der Inkubationswechsel kontinuierlich geringfügig abnimmt, führen die Lokalanaesthetika und das Tocainid in einem ganz bestimmten Konzentrationsbereich zu einer erhöhten tonischen Spannungsentwicklung. Dieser Bereich liegt zwischen 10^{-4} und 10^{-3} mol/l und ist somit identisch mit dem, der in normaler KREBS-Lösung zur Stimulierung der Spontanaktivität führt.

Der stimulatorische Effekt wird bei weiterer Dosissteigerung der untersuchten Pharmaka durch einen inhibitorischen abgelöst, der sich in einer pharmako-spezifischen Unterdrückung der to-

Tabelle 1:

Der Effekt der Lokalanaesthetika Lidocain und Tetracain auf die Spontanaktivität der *V. portae* in Ca-2,5-Lösung. Die Höhe der sich in Ca-2,5-Lösung entwickelnden Spannung wurde jeweils 12,5 und 25 Minuten nach Inkubationsbeginn gemessen. $\Delta\%$ entspricht der Änderung der Spannungsentwicklung im Vergleich zur Kontrolle (100 %) unter Berücksichtigung der Nummer innerhalb der Inkubationsfolge.

Ca-2,5-Lösung	Höhe nach 12.5 min.	Höhe nach 25 min.
Norm 1. Inkubation	100 %	100 %
2.	103	94
3.	84	79
4.	74	74
5.	68	67
6.	62	63
7.	59	60
8.	55	56

Ca-2,5-Lösung	$\Delta\%$	$\Delta\%$
Norm	100 %	100 %
1×10^{-6} Lidocain	95 - 8	101 + 7
1×10^{-5} (mol/l)	87 + 3	86 + 8
1×10^{-4}	91 + 23	96 + 30
3×10^{-4}	95 + 40	91 + 36
1×10^{-3}	87 + 40	83 + 32
3×10^{-3}	60 + 1	52 - 13
1×10^{-2}	2 - 96	3 - 95

Ca-2,5-Lösung	%	%
Norm	100 %	100 %
1×10^{-6} Tetracain	71 - 31	93 - 1
1×10^{-5} (mol/l)	81 - 4	93 + 17
1×10^{-4}	93 + 25	103 + 39
3×10^{-4}	93 + 36	82 + 22
1×10^{-3}	10 - 84	15 - 76
3×10^{-3}	6 - 90	4 - 93
1×10^{-2}	2 - 97	2 - 97

nischen Spannungskomponente in Ca-2,5-Lösung äußert. So bewirken 10^{-3} mol/l Tetracain eine nahezu vollständige Hemmung der tonischen Spannungsentwicklung der *V. portae* in Ca-2,5-Lösung. Eine solche kann bei den anderen Substanzen, wenn überhaupt, erst durch höhere Konzentrationen (Lidocain 10^{-2} mol/l) erreicht werden. Die Reihenfolge der hemmenden Wirkung der einzelnen Substanzen ist dabei: Tetracain wirkt stärker

als Lidocain, dieses stärker als Mepivacain, Prilocain, Tocainid und Procain.

Hierbei ist zu betonen, daß Procain und Prilocain selbst in der hohen Konzentration von 10^{-2} mol/l die tonische Aktivierung in Ca-2,5-Lösung kaum zu beeinflussen vermögen.

Aus der Tabelle 2 über den Effekt der Lokalanaesthetika auf die Spontanaktivität der V.portae in Na-freier Ca-94-Lösung ist ersichtlich, daß normalerweise, d.h. in Substanz-freier Lösung, die Latenz bis zum Auftreten der Spontanaktivität in diesem Medium mit der Anzahl der Inkubationen variiert. So ist die Latenz bei der zweiten Inkubation in Ca-94-Lösung um 40 % verkürzt und nimmt dann mit der Anzahl der Inkubationen in diesem Medium wieder zu. Ebenso ist das erreichte tonische Maximum in der zweiten Inkubation um 35 % erhöht; danach nimmt es mit der Anzahl der Inkubationen kontinuierlich ab. Bei Anwesenheit der Lokalanaesthetika kommt es entsprechend ihrer stimulierenden Wirkpotenz in dem Konzentrationsbereich von 10^{-4} mol/l beim Tetracain, 10^{-3} mol/l beim Lidocain und von 3×10^{-3} mol/l bei den übrigen Substanzen zu einer mehr oder weniger starken Latenzverkürzung und gleichzeitigen Steigerung der sich in Ca-94-Lösung entwickelnden tonischen Spannungskomponente.

Ein hemmender Effekt auf diese Komponente kann durch die untersuchten Substanzen erst in hohen Konzentrationen ausgelöst werden. Auch in Ca-94-Lösung führen lediglich Tetracain und Lidocain zu einer ausgeprägten Hemmung der tonischen Spannungsentwicklung. So verhindert Tetracain in einer Konzentration von 10^{-3} mol/l das Auftreten der tonischen Spannungskomponente nahezu vollständig. Lidocain, welches in Ca-2,5-Lösung in einer Konzentration von 10^{-2} mol/l die Entwicklung der tonischen Aktivität ähnlich stark blockiert (Tab. 1), bedingt in der gleichen Konzentration in Ca-94-Lösung lediglich eine halbmaximale Reduzierung der tonischen Spannung (Tab. 2). Auch bei den anderen, weniger potenten Substanzen ist eine Rechtsverschiebung des inhibitorischen Effektes in der Inkubationslösung mit dem höheren Calcium-Gehalt zu beobachten. Um den Ef-

Tabelle 2:

Der Effekt der Lokalanaesthetika Lidocain und Tetracain, sowie des spezifischen Calcium-Antagonisten Nifedipin auf die Spontanaktivität der V. portae in Ca-94-Lösung.

Es wurde die Latenz bis zum Einsetzen der tonischen Aktivität sowie deren Höhe 12.5 und 25 Minuten nach Inkubationsbeginn gemessen.

- : der Zeitraum bis zum Einsetzen einer tonischen Spannungsentwicklung war größer als 25 Minuten.

$\Delta\%$ entspricht der Änderung der Latenz bzw. der Spannungsentwicklung im Vergleich zur Kontrolle (100%) unter Berücksichtigung der Nummer innerhalb der Inkubationsfolge.

Ca-94-Lösung	Latenz	Höhe nach 12.5 min.	Höhe nach 25 min.
Norm 1. Ink.	100 %	100 %	100 %
2.	60	135	153
3.	61	120	142
4.	63	90	123
5.	70	85	110
6.	91	67	93
7.	93	47	63

Ca-94-Lösung	$\Delta\%$	$\Delta\%$	$\Delta\%$
Norm-6	100 %	100 %	100 %
1×10^{-5} Lidocain	113 +88	123 - 9	102 -34
1×10^{-5} (mol/l)	101 -65	116 - 4	100 -30
1×10^{-4}	104 +65	116 +29	92 -25
1×10^{-3}	98 +40	113 +33	92 -17
3×10^{-3}	90 - 2	93 -39	76 - 9
1×10^{-2}	87 - 6	46 - 3	41 -35

Ca-94-Lösung	$\Delta\%$	$\Delta\%$	$\Delta\%$
Norm-6	100 %	100 %	100 %
1×10^{-5} Tetracain	87 -27	109 -19	129 -16
1×10^{-5} (mol/l)	76 -24	109 - 9	116 -19
1×10^{-4}	71 -12	104 -15	104 -16
1×10^{-3}	-	4 -95	8 -93
3×10^{-3}	-	0 -100	0 -100
1×10^{-2}	-	0 -100	0 -100

Ca-94-Lösung	$\Delta\%$	$\Delta\%$	$\Delta\%$
Norm-8	100 %	100 %	100 %
3×10^{-7} Nifedipin	78 -30	103 -34	115 -25
1×10^{-7} (mol/l)	67 -10	96 -20	118 -17
3×10^{-7}	23 -64	77 -15	118 - 4
1×10^{-6}	13 -82	59 -31	75 -32
3×10^{-6}	2 -98	29 -57	50 -46
1×10^{-5}	2 -98	14 -70	28 -56

fekt der obenaufgeführten Verbindungen auf die in den Calcium-Lösungen spontan auftretende Spannungskomponente besser einschätzen zu können, verglichen wir ihre Wirkung mit der des spezifischen Ca-Antagonisten Nifedipin in Ca-94-Lösung (Tab.2). Nifedipin, welches normalerweise in einer Konzentration von 10^{-7} mol/l die mechanische Spontanaktivität der V.portae vollständig zum Erliegen bringt, hat in dieser Konzentration in Ca-94-Lösung lediglich einen minimalen Hemmeffekt auf die spontane tonische Kraftentwicklung. Dieser angedeutete inhibitorische Effekt nimmt mit steigenden Nifedipin-Konzentrationen zu, doch selbst bei 10^{-5} mol/l ist in Ca-94-Lösung noch eine minimale tonische Spannungsentwicklung zu verzeichnen. Dies zeigt eine eindeutige Abhängigkeit der Nifedipin-Wirkung von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration.

Es konnte außerdem bei Nifedipin eine eindeutige Latenzverkürzung in Ca-94 mit steigender Dosierung beobachtet werden. Ein stimulierender Effekt wie in normaler KREBS-Lösung kann durch Nifedipin in Ca-94-Lösung nicht induziert werden.

4.5.7. Der Effekt von Procain auf die Spontanaktivität der V. portae bei Anwesenheit von Phentolamin oder Propranolol

Um die Möglichkeit einer Vermittlung der Lokalanaesthetika-Wirkung auf die Spontanaktivität der isolierten V.portae über Katecholamin-Rezeptoren ausschließen zu können, untersuchten wir den Effekt von Procain (10^{-3} bis 10^{-2} mol/l) auf die Spontanaktivität nach vorhergehender α -(Phentolamin)- bzw. β -(Propranolol)-Rezeptorenblockade (Abbildung 25).

Dabei konnte festgestellt werden, daß der Effekt von Procain auf die Spontanaktivität durch eine α -Rezeptorenblockade in der Weise verändert wird, daß es bereits bei einer weniger hohen Procain-Konzentration (bei 6×10^{-3} anstelle von 10^{-2} mol/l) zum Auftreten einer mehr oder weniger starken Abnahme der induzierten tonischen Spannung kommt (Abbildung 25 B).

Eine β -Rezeptorenblockade hat keinen Einfluß auf den dosisabhängigen Procaineffekt (Abbildung 25 C).

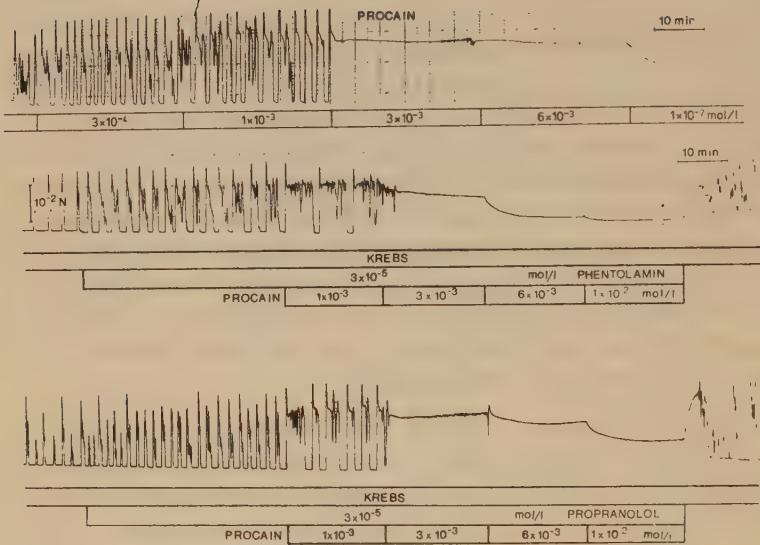


Abb. 25:

Originalregistrierungen des Effekts von Procain auf die isometrische mechanische Spontanaktivität der isolierten V. portae unter α - bzw. β -Rezeptorenblockade

A: Norm: Procain (3×10^{-4} - 10^{-2} mol/l)

B: Procain (10^{-3} - 10^{-2} mol/l) bei Anwesenheit von Phentolamin (3×10^{-5} mol/l)

C: Procain (10^{-3} - 10^{-2} mol/l) bei Anwesenheit von Propranolol (3×10^{-5} mol/l)

4.5.8. Der Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die induzierten Kontraktionen der V.portae

4.5.8.1. Der Effekt von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen der V.portae

Da die Effekte der untersuchten Pharmaka auf die mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae relativ schwer zu quantifizieren und zu vergleichen sind, untersuchten wir auch ihre Wirkung auf die durch KCl und Noradrenalin induzierten Kontraktionen.

Die graphische Darstellung (Abb. 26 A) zeigt vergleichend den Effekt steigender Mepivacain-, Prilocain- und Tocainid-Konzentrationen (Abszisse) auf die durch KCl induzierte Kontraktion prozentual zur Norm (Ordinaten). Unter 100 % der Norm versteht man hier die durch Erhöhung der extrazellulären KCl-Konzentration auf 59 mmol/l in normaler KREBS-Lösung induzierte Kraftentfaltung zu Beginn des Versuches.

Mepivacain, Prilocain und Tocainid beeinflussen die KCl-induzierten Kontraktionen in konzentrationsabhängiger Weise. In niedriger Dosierung (10^{-6} - 3×10^{-4} mol/l) stimulieren sie die KCl-induzierten Kontraktionen, so daß die tonische Spannungskomponente um 10-20 % anwächst. Ab 10^{-3} mol/l setzt eine inhibitorische Wirkung durch die untersuchten Substanzen ein, die bei der höchsten eingesetzten Dosierung (10^{-2} mol/l) in allen Fällen eine annähernd 70%ige Unterdrückung der induzierten Spannungskomponente zur Folge hat. Dabei läßt sich die Reihenfolge: Mepivacain > Prilocain > Tocainid in der Wirkpotenz der einzelnen Substanzen aufstellen.

Der Einfluß von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch Noradrenalin induzierte Aktivität der V.portae ist in der Abbildung 26 B graphisch ebenfalls in % der Norm dargestellt.

Unter 100 % der Norm versteht man hier die durch 10^{-5} mol/l Noradrenalin induzierte Spannungsentwicklung in normaler KREBS-Lösung zu Beginn des Versuches.

Auch auf die durch Noradrenalin induzierte Kontraktion haben alle drei Substanzen im niedrigen Dosierungsbereich einen mehr oder weniger ausgeprägten stimulatorischen Effekt. Dieser ist beim Tocainid stärker ausgeprägt und hält bis zu einer Tocainid-Konzentration von 10^{-3} mol/l an. Bei dieser Dosierung üben die beiden anderen Substanzen bereits einen inhibitorischen Effekt auf die durch Noradrenalin induzierte Kraftentwicklung aus, der sich schließlich bei allen konzentrationsabhängig verstärkt. 10^{-2} mol/l der untersuchten Substanzen führen zu einer mehr als 50%igen Reduzierung der induzierten Spannung. Die Reihenfolge der Hemmstärke ist dabei zunehmend folgende: Tocainid < Prilocain < Mepivacain.

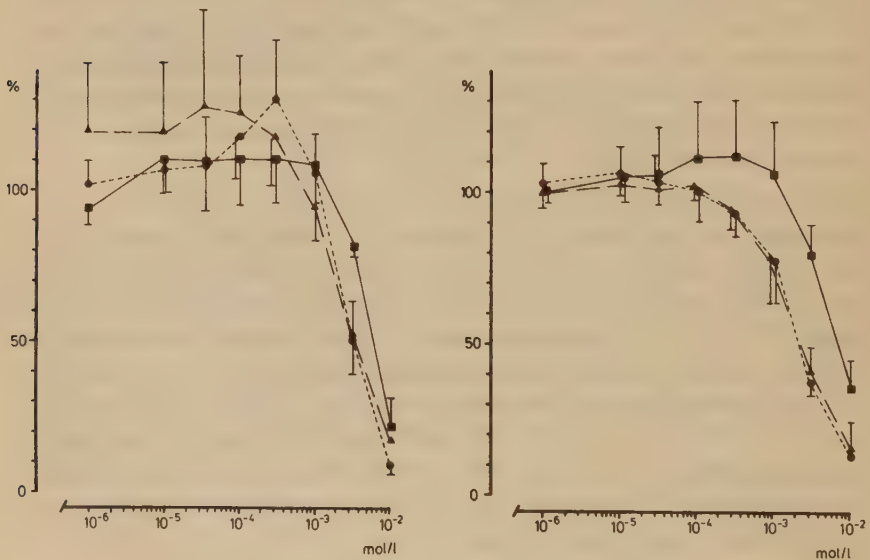


Abb. 26 A: (links) und B: (rechts)

Graphische Darstellung des Effektes verschiedener Konzentrationen von Mepivacain (●), Prilocain (▲), Tocainid (■) (Abszisse) auf die durch

A: 59 mmol/l KCl (links)

B: 10^{-5} mol/l Noradrenalin (rechts)

induzierten Kontraktionen in % der Norm (Ordinate).

4.5.8.2. Vergleich des Effekts von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen der V. portae

Vergleicht man den inhibitorischen Effekt der untersuchten Substanzen auf die durch Kaliumchlorid induzierten mit den durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen, so lassen sich im höheren Konzentrationsbereich ($3 \times 10^{-3} - 10^{-2}$ mol/l) weder für Mepivacain, noch für Prilocain noch für Tocainid signifikante Unterschiede in der Hemmstärke feststellen (Abbildung 27).

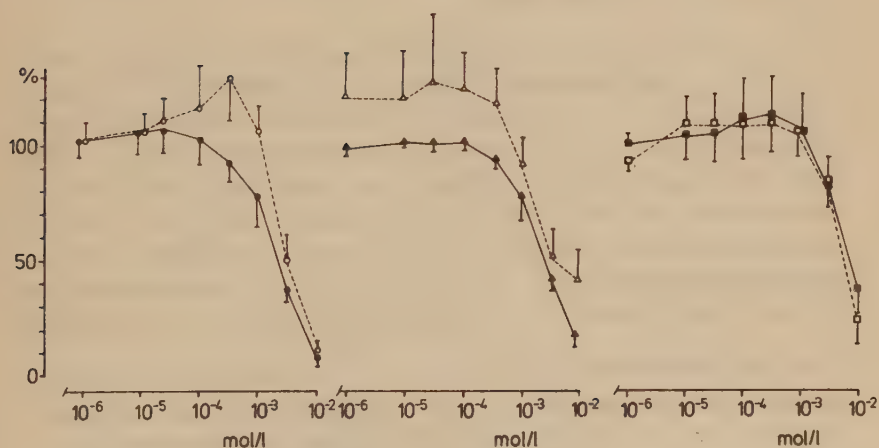


Abb. 27:

Vergleichende graphische Darstellung des Effektes verschiedener Konzentrationen von Mepivacain (links), Prilocain (Mitte) und Tocainid (rechts) auf die durch 10^{-5} mol/l Noradrenalin (●), (▲), (■) mit den durch 59 mmol/l KCl (○), (△), (□) induzierten Kontraktionen.

4.5.8.3. Der Effekt verschiedener extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain und Tocainid

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen dem Effekt von Mepivacain, Prilocain und Tocainid und der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf die Kraftentwicklung der V.portae zu prüfen, wurde die Abhängigkeit der durch KCl (59 mmol/l) und der durch Noradrenalin (10^{-5} mol/l) induzierten Kontraktionen vom extrazellulären Calcium-Gehalt bei Anwesenheit jeweils einer der oben genannten Substanzen untersucht. Die Konzentration der Pharmaka betrug 3×10^{-4} mol/l. Die Untersuchungsergebnisse sind in den Abbildungen 28 und 29 graphisch dargestellt. 100 % bedeutet dabei die Höhe der Kontraktionsamplitude der V.portae induziert durch KCl bzw. Noradrenalin in normaler KREBS-Lösung zu Beginn der Untersuchungen.

Der Verlauf der Kontrollkurve in Abb.28 (bei Abwesenheit der untersuchten Verbindungen) zeigt, daß in nominell Ca^{++} -freier Lösung (10^{-5} mol/l Ca^{++}) durch KCl kein Spannungsanstieg induziert werden kann. 0,25 mmol/l CaCl_2 ermöglichen bereits einen deutlichen Spannungsanstieg, der sich durch eine schrittweise Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf 7,5 mmol/l annähernd linear steigern läßt. So erreicht die induzierte Spannungskomponente bei 7,5 mmol/l CaCl_2 im Inkubationsmedium 200 % der Norm, ohne die Einstellung eines Maximums anzudeuten.

Durch die Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain bzw. Tocainid kommt es bei erniedrigter extrazellulärer Ca^{++} -Konzentration (kleiner als 2,5 mmol/l) zu einer mäßigen Rechtsverlagerung des Kurvenverlaufes. Dies kann als inhibitorischer Effekt der Substanzen auf die induzierte Spannungsentwicklung angesehen werden. Mit steigender CaCl_2 -Konzentration nimmt dieser Hemmeffekt ab.

Die durch Noradrenalin induzierte Kraftentwicklung weist ebenfalls eine starke Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf (Kontrollkurve der Abbildung 29). In nomi-

nell Ca-freier KREBS-Lösung vermag Noradrenalin eine minimale Kontraktionsantwort (4 % der Norm) zu induzieren. Mit steigendem Calcium-Gehalt in der Lösung kommt es zunächst zu einer

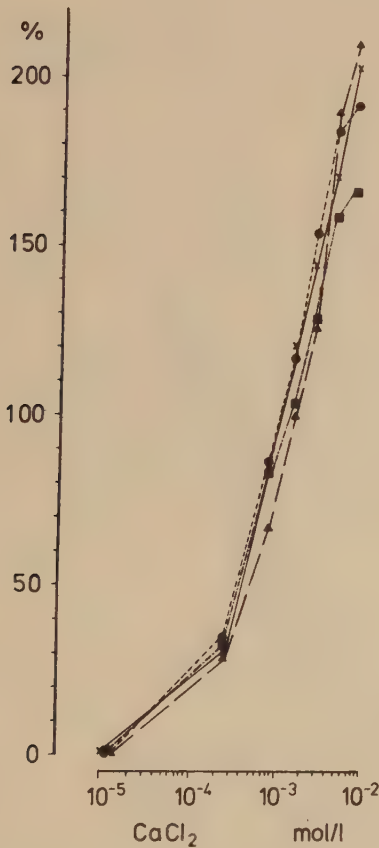


Abb. 28:

Graphische Darstellung des Einflusses verschiedener Ca^{++} -Konzentrationen (Abszisse) auf die durch KCl (59 mmol/l) induzierte Kontraktion in % der Norm (Ordinate) ohne (x) und bei Anwesenheit von 3×10^{-4} mol/l Mepivacain (●), Prilocain (▲), Tocainid (■).

starken Zunahme der induzierten Kontraktionen. Ab 1,5 mmol/l CaCl_2 zeigt sich eine Abflachung des Kurvenverlaufs; bei 7,5 mmol/l ist schließlich ein Amplitudenmaximum von etwa 120 % der Norm erreicht.

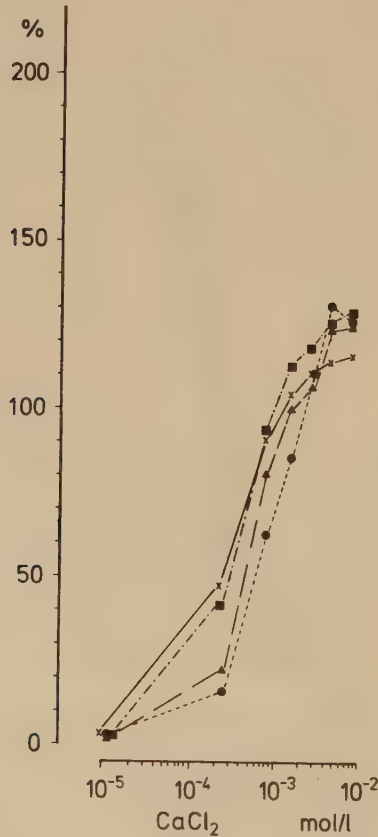


Abb. 29:

Graphische Darstellung des Einflusses verschiedener Ca^{++} -Konzentrationen (Abszisse) auf die durch Noradrenalin (10^{-5} mol/l) induzierte Kontraktion in % der Norm (Ordinate) ohne (x) und bei Anwesenheit von 3×10^{-4} mol/l Mepivacain (●), Prilocain (▲), Tocainid (■).

Aus dem Verlauf der Kurven der induzierten Kontraktionen bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain bzw. Tocainid ist besonders im Bereich einer verminderten extrazellulären Ca^{++} -Konzentration eine deutliche Rechtsverlagerung zu erkennen. Dies ist einem Hemmeffekt gleichzusetzen, der in der Reihenfolge Mepivacain, Prilocain, Tocainid abnimmt. Dieser inhibitorische Effekt verringert sich mit steigender Ca-Konzentration im Inkubationsmedium, um schließlich bei 5 und 7,5 mmol/l CaCl_2 sich in einen stimulatorischen umzuwandeln.

4.5.8.4. Vergleich des Effekts verschiedener extrazellulärer Calciumionen-Konzentrationen auf die durch Kaliumchlorid und Noradrenalin induzierten Kontraktionen bei Anwesenheit von Mepivacain, Prilocain und Tocainid

Die in den Abbildungen 30, 31, 32 graphisch vergleichend dargestellten Effekte von Mepivacain, Prilocain und Tocainid auf die durch KCl und Noradrenalin induzierte Kraftentwicklung in Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration zeigen, daß die untersuchten Verbindungen keine bevorzugte Hemmung der Spannungsentwicklung bezüglich eines der beiden Induktoren haben.

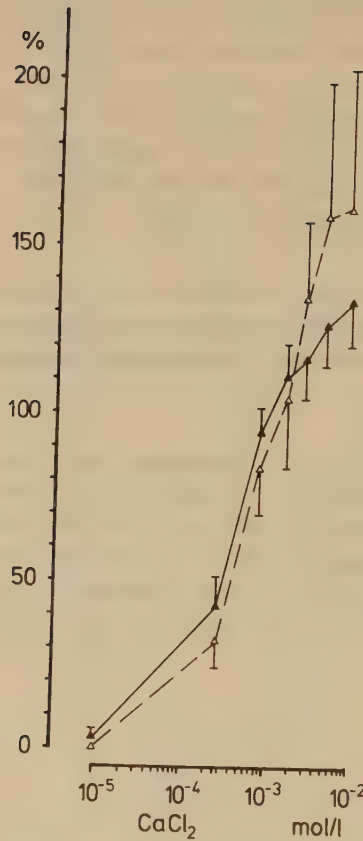


Abb. 30:

Graphische Darstellung der Wirkung steigender extrazellulärer Ca^{++} -Konzentrationen (Abszisse) auf die durch 59 mmol/l KCl (Δ) und 10^{-5} mol/l Noradrenalin ($\blacktriangle$) induzierten Kontraktionen in % der Norm mit Mepivacain (3×10^{-4} mol/l) in der Inkubationslösung.

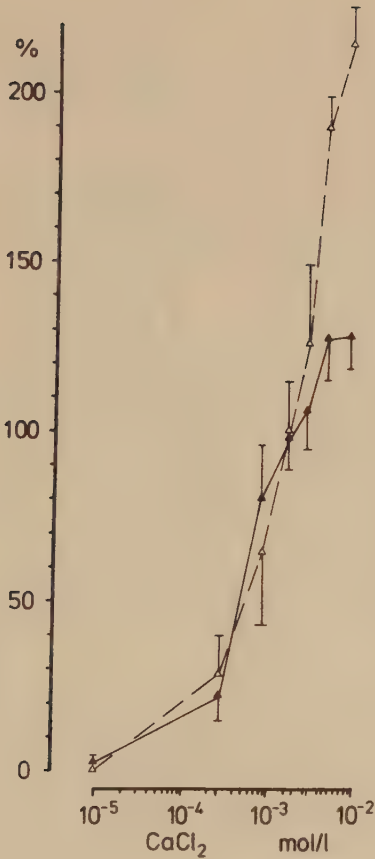


Abb. 31:

Graphische Darstellung der Wirkung steigender extrazellulärer Ca^{++} -Konzentrationen (Abszisse) auf die durch 59 mmol/l KCl (Δ) und 10^{-5} mol/l Noradrenalin ($\blacktriangle$) induzierten Kontraktionen in % der Norm mit Prilocain (3×10^{-4} mol/l) in der Inkubationslösung.

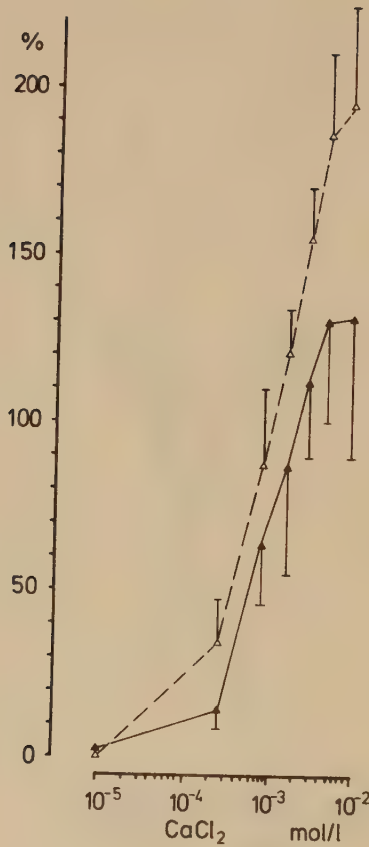


Abb. 32:

Graphische Darstellung der Wirkung steigender extrazellulärer Ca^{++} -Konzentrationen (Abszisse) auf die durch 59 mmol/l (Δ) und 10^{-5} mol/l Noradrenalin ($\blacktriangle$) induzierten Kontraktionen in % der Norm mit Tocainid (3×10^{-4} mol/l) in der Inkubationslösung.

5. DISKUSSION

Durch das methodische Vorgehen - Präparation, Inkubation und geeignete passive Vordehnung - konnte sichergestellt werden, daß alle Präparate der V.portae über Stunden (maximal 12 Stunden) hinweg ein gleichbleibendes rhythmisches Muster der phasischen Spontanaktivität aufwiesen. Dies zeigt, daß die von uns benutzte Versuchsanordnung zur Aufzeichnung der isometrischen mechanischen Kraftentwicklung der isolierten Meerschweinchen-Portalvene gut geeignet ist, die gewählten Parameter eindeutig darzustellen.

Die isolierte V. portae hat - ähnlich wie andere glattmuskuläre Organe - neben kontraktilen und elastischen Eigenschaften eine dritte Komponente, die Plastizität. Wird das Präparat zu Beginn der Untersuchungen in der isometrischen Maßeinheit passiv vorgedehnt, so entwickelt es eine schnelle kurzfristige Spannungszunahme, die daraufhin wieder zuerst rasch, dann zunehmend langsamer abnimmt, bis ein neues Spannungsgleichgewicht erreicht ist. Aufgrund dieser plastischen Komponente ist die Erstellung eines Längen-Spannungs-Diagrammes bei der V.portae nicht so eindeutig wie beim quergestreiften Muskel.

Längen-Spannungs-Diagramme glatter Gefäßmuskulatur wurden von mehreren Autoren aufgestellt (103, 122, 168, 174, 178, 241).

Nach Einstellung eines annähernden Spannungsgleichgewichtes nach etwa 20 Minuten setzen spontane phasische Kontraktionen ein, deren Amplitudenhöhe eine Abhängigkeit von der passiven Vordehnung zeigen (128, 176, 178, 193, 241). Die zwischen den phasischen Kontraktionen sich einstellende Spannung, der Basaltonus, bleibt über den gesamten Verlauf des Versuches ziemlich konstant.

Das Maximum der spontanen phasischen Kraftentwicklung wird bei einer Vordehnung mit 3×10^{-2} N unter den von uns gewählten Bedingungen erreicht, und läßt sich durch höhere Vordehnung nicht wesentlich steigern (241).

Die mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae des

Meerschweinchens unterliegt einer charakteristischen rhythmischen Modulation (Abb.1). Der Basaltonus ist von mehrgipfligen phasischen Kontraktionskomplexen überlagert, die in Dauer, Amplitudenhöhe und Frequenz variieren. Ähnliche Kontraktionsmuster wurden auch von anderen Autoren beschrieben (12, 91, 108, 216, 241).

Die mechanische Spontanaktivität der isolierten *V.portae* ist neben der passiven Vordehnung auch von anderen Inkubationsbedingungen abhängig.

So geht eine Erhöhung der Osmolarität in normaler KREBS-Lösung (300 mosmol/l) bedingt durch Saccharose-Zusatz mit einer typischen Veränderung des spontanen Kontraktionsmusters einher (Abb.2). Eine Hyperosmolarität des Inkubationsmediums (446 mosmol/l) führt zu einer vorübergehenden (etwa 15 Minuten) nahezu vollständigen Unterdrückung der phasischen Spontanrhythmik. Dies stimmt mit den von ARVILL und Mitarb. (7) über einen Untersuchungszeitraum von 10 Minuten gemachten Beobachtungen an der *V.portae* der Ratte (450 mosmol/l) überein.

ZINNHOBLER (241), der den Effekt von 400 mosmol/l auf die *V.portae* des Meerschweinchens untersuchte, stellte lediglich eine kurzfristige Frequenz- und Amplitudenreduzierung fest.

Nach einer Zeitspanne von 15 Minuten kommt es zu erneutem Einsetzen phasischer Kontraktionen, deren Amplitude erhöht und Frequenz im Vergleich zur Norm geringgradig vermindert ist. Analoge Ergebnisse erhielt ZINNHOBLER (241) bei der Meerschweinchen-Portalvene sowie ANDERSSON et al. (6) und MCKINLEY et al. (161) an der Ratten-Portalvene.

Die Steigerung der Osmolarität auf 592 mosmol/l induziert einen mäßigen Anstieg des Basaltonus mit überlagerten phasischen Kontraktionen, deren Amplitude gegenüber der Norm um mehr als 50% vermindert ist.

738 mosmol/l bewirken einen weiteren Anstieg des Basaltonus und Abnahme der Amplitude der phasischen Aktivität.

JOHANSSON und LJUNG (127) erzielten bei der *V.portae* der Rat-

te durch eine Hyperosmolarität von 690 mosmol/l ein Sistieren der Spontanaktivität. ANDERSSON et al. (6) beobachteten dies bei einer 1,5- bis 3fachen Erhöhung der normalen Tonizität.

Die Herstellung der normalen Osmolarität hat nach einer Übergangsphase die vollständige Reversibilität der Spontanrhythmik zur Folge.

Als Ursache für die Änderungen in der Spontanrhythmik der isolierten V.portae, ausgelöst durch eine Hyperosmolarität, werden folgende Mechanismen diskutiert:

- 1) Änderung des Kaliumgradienten durch intrazelluläre K^+ -Konzentrationserhöhung infolge Abnahme des Zellvolumens, dadurch bedingte Hyperpolarisation der Membran
- 2) Membranpermeabilitätsänderung für einzelne Ionen
- 3) Änderung der intrazellulären Erregungsausbreitung (Hemmung)
- 4) Änderung der elektro-mechanischen Kopplung (Hemmung)
- 5) Änderung der Aktomyosin-ATPase-Aktivität (Hemmung)

Auch bei der Inkubation der V.portae in 22°C warme KREBS-Lösung zeigt die Portalvenenmuskulatur nach Einstellung der passiven Vordehnung ein typisches plastisch-visköses Verhalten. Ein Spannungsgleichgewicht wird ähnlich wie unter Standardbedingungen (37°C) nach etwa 15-20 Minuten erreicht, und es kommt zum Einsetzen der spontanen phasischen Kontraktionen. Die Amplitudenhöhe erreicht 1/3 der Norm, und die Frequenz ist vermindert. Eine schrittweise Erhöhung der Inkubationstemperatur auf 37°C hat eine Frequenz- und Amplitudenzunahme der phasischen Kontraktionen zur Folge (Abb. 3).

Eine derartige Abhängigkeit der Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens von der Inkubationstemperatur konnte auch ZINNHOBLE (241) bei seinen Untersuchungen (37°C-schrittweise Reduktion auf 21°C und Wiedererwärmung auf 37°C) feststellen; dies steht im Einklang mit den von VANHOUTTE und LORENZ (229) an Hunde-Mesenterialvenen gemachten Beobachtungen.

Als Ursache für die durch Temperaturänderung bedingten Effekte auf die Spontanaktivität der V.portae können angesehen werden:

- 1) Änderung der enzymatischen Reaktionen (Aktomyosin-ATPase, Na-K-ATPase)
- 2) Änderung des Zellmetabolismus, im Besonderen der Ca-Homöostase im Intrazellulärraum
- 3) Änderung der Membranpermeabilität für einzelne Ionen
- 4) Änderung der elektro-mechanischen Kopplung

Aethanol, ein relativ häufig eingesetzter Lösungsvermittler - so auch für Nifedipin und die Ionophore A 23187 - hat eine konzentrationsabhängige Wirkung auf die Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens. So führt eine Aethanolkonzentration von 0,1 - 1,0 % zu Frequenz- und Amplitudenzunahme der phasischen Kontraktionen. Eine weitere Erhöhung des Aethanol-Gehaltes induziert einen tonischen Spannungsanstieg mit überlagerten hochfrequenten Amplituden-reduzierten phasischen Kontraktionen. Diese tonische Komponente nimmt mit steigender Aethanol-Konzentration zu und erreicht bei 30 % ein Maximum, wobei es gleichzeitig zum Sistieren der phasischen Aktivität der V.portae kommt (Abb.4).

Dieser biphasische Effekt - stimulierend und hemmend - auf die Spontanaktivität der V.portae durch Aethanol konnte von EDGARIAN und Mitarb. (65) an der isolierten Ratten-Portalvene nicht beobachtet werden. Sie fanden nur einen inhibitorischen Effekt des Aethanols im Konzentrationsbereich von 8 - 430 mmol/l (0,4 - 20%). Eine Änderung der Ca^{++} -Verfügbarkeit für den kontraktile Apparat wird dabei diskutiert.

PUSZKIN und RUBIN (180) wiesen nach, daß Aethanol den Ca^{++} -Transport zu den isolierten Membranfraktionen des SR hemmt. Aethanol kann mit dem intrazellulären Ca^{++} -Transport interferieren, da es die Membranen rasch zu penetrieren vermag (195). Der stimulierende wie auch der hemmende Effekt lassen sich mit Wirkung des Aethanols an der Membran und den intrazellulären

Strukturen über eine dadurch vermittelte Änderung der Ca^{++} -Konzentration erklären.

Bei den Untersuchungen über den Effekt einer Erhöhung der extrazellulären K^{+} -Konzentration auf die mechanische Aktivität glattmuskulärer Präparate bieten sich zwei unterschiedliche Vorgehensweisen an:

1. Ein isoosmolarer Na/K-Austausch und damit Wahrung der Isotonie auf Kosten einer Änderung des Na/Ca-Verhältnisses
2. Eine zusätzliche Kalium-Applikation zur normalen KREBS-Lösung und damit Wahrung des wichtigen Na/Ca-Verhältnisses auf Kosten einer geringfügigen Hypertonizität.

Üblicherweise wird nach der unter Punkt 1 genannten Möglichkeit vorgegangen (21, 81, 88, 147).

Die Reduktion der extrazellulären Na^{+} -Konzentration hat jedoch einen Eigeneffekt auf die mechanische Spontanaktivität der V. portae (Abb. 12, 13; 85, 156).

Eine Verminderung des extrazellulären Na-Gehaltes führt bei der V. portae des Meerschweinchens (Abb. 12, 13) und der der Ratte (19) zu einer Kontraktion. Darüber hinaus konnte eine Verstärkung der durch Kalium induzierten Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur beobachtet werden (110, 137).

Die Wahrung des Na/Ca-Verhältnisses in der Inkubationslösung ist von großer Bedeutung, da die Interaktion zwischen diesen Ionen eine wesentliche Rolle für den Kontraktions-/Relaxations-Mechanismus des glatten Muskels spielt (38, 41, 76, 98).

Diese hier dargelegten Beobachtungen über den Effekt eines aequimolaren K/Na-Austausches und die Ergebnisse über den geringen Effekt einer Hypertonizität von 100 (ZINNHOBLER, 241) bzw. 146 mosmol/l (Abb. 2) auf die Spontanaktivität der isolierten V. portae des Meerschweinchens veranlaßten uns, die zweite der aufgeführten Möglichkeiten zu wählen.

Die Erhöhung der extrazellulären K^{+} -Konzentration führt zu einer dosisabhängigen Änderung der mechanischen Spontanaktivität der

V.portae (Abb.5). Es kommt zunächst zu einer Verstärkung der phasischen Aktivität (KCl 5,9 - 17,7 mmol/l) und bei weiterer Konzentrationserhöhung (17,7 - 29,5 mmol/l) zur Induktion eines tonischen Spannungsanstiegs mit überlagerter hochfrequenter phasischer Aktivität. Ab 29,5 mmol/l führt Kalium zum Sistieren der phasischen und zur weiteren Steigerung der tonischen Aktivität, deren Maximum bei 59 mmol/l dem der Amplituden der normalen phasischen Kontraktionen entspricht.

Der stimulierende Effekt einer erhöhten extrazellulären K^+ -Konzentration auf die mechanische Aktivität wird von verschiedenen Autoren mit einem vermehrten transmembranalen Ca^{++} -Influx erklärt (40, 45, 51, 160, 213, 226), bedingt durch die Reduktion des Membranpotentials. Eine Erhöhung der K^+ -Konzentration im EZR führt über eine Verminderung des Kalium-Gleichgewichtspotentials zur Depolarisation der Membran (19, 85, 201).

Die Katecholamine - Noradrenalin und Adrenalin - bewirken ab einer Schwellenkonzentration von 10^{-8} mol/l eine Stimulierung der phasischen Aktivität der V.portae (Abb. 6, 7).

Auch in großen Arterien und Venen liegt die Schwellenkonzentration für α -adrenerge Effekte bei 10^{-9} bis 10^{-8} mol/l (15, 96).

Im mittleren Dosierungsbereich (3×10^{-7} - 3×10^{-6} mol/l) kommt es zu einer phasischen und tonischen, in höherer Dosierung zu einer annähernd rein tonischen Aktivierung des Kontraktionsmechanismus (Abb. 6, 7; 21). Die Wirkpotenz von Adrenalin ist dabei höher als von Noradrenalin (3).

Das Maximum der induzierten Kraftentwicklung wird bei einer Katecholaminkonzentration von 10^{-5} mol/l erreicht. Das initiale Spannungsmaximum ist etwa doppelt so hoch, wie das der normalen phasischen Aktivität und auch das der maximal durch KCl induzierten Kontraktion. Nach Überschreiten des Maximums kommt es zu einem kontinuierlichen Abfall der tonischen Komponente (Abb. 6, 7; 241).

BILEK und Mitarb. (21) fanden bei der Ratten-Portalvene, daß die Noradrenalin-induzierte Kontraktion etwa 75 % des initialen

Spannungsppeak der KCl-induzierten Aktivität ausmacht. Dies ist wohl auf den isoosmolaren Austausch von Natrium durch Kalium bei ihren Versuchen zurückzuführen.

Als Ursache für die Aktivierung des kontraktiven Apparates durch Noradrenalin und Adrenalin werden ein erhöhter transmembranaler Ca^{++} -Influx und eine Freisetzung von intrazellulären Calciumionen angesehen (10, 84).

Die stimulierende Wirkung von Noradrenalin und von Adrenalin auf die isolierte V.portae des Meerschweinchens erfolgt über eine α -Rezeptorenaktivierung (Abb. 8 und 9; 84, 148).

Eine Blockade der α -Rezeptoren der isolierten V.portae durch 3×10^{-5} mol/l Phentolamin bewirkt eine Reduzierung der phasischen Aktivität, wogegen eine β -Rezeptorenblockade durch 3×10^{-5} mol/l Propranolol ohne Effekt bleibt (Abb. 8, 9).

Phentolamin (3×10^{-5} mol/l) hebt den durch 10^{-5} mol/l Noradrenalin oder Adrenalin vermittelten stimulatorischen Effekt auf. Bei Adrenalin kommt es bei vorausgehender α -Rezeptorenblockade zum Auftreten eines deutlichen inhibitorischen Effektes auf die Spontanaktivität, der über β -Rezeptoren vermittelt zu sein scheint und mit der sogenannten Adrenalinumkehr in vivo verglichen werden kann.

Acetylcholin hat in einem Konzentrationsbereich (10^{-6} bis 3×10^{-5} mol/l) einen stimulierenden Effekt auf die phasische Aktivität der V.portae, der durch Atropin (3×10^{-5} mol/l) vollständig aufgehoben wird (Abb. 10).

Auch v. LOH (153) konnte einen ähnlichen Einfluß des Acetylcholins auf die Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens feststellen und sah dies in einer Membrandepolarisation und Spikesfrequenzzunahme und in dem dadurch bedingten Spannungsanstieg begründet. Auch er beobachtete einen Antagonismus zwischen Acetylcholin und Atropin, während eine Blockade der adrenergen Rezeptoren wirkungslos blieb. Er interpretierte dies mit einem direkten Angriff des Acetylcholins an der glatten Muskulatur der Portalvene des Meerschweinchens.

Sowohl die spontane als auch die durch KCl und die Katecholamine (Adrenalin und Noradrenalin) induzierte Kraftentwicklung der V.portae des Meerschweinchens und der Ratte zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (10, 19, 88, 125, 241; Abb. 11).

In einer Ca-freien KREBS-Lösung (Ca nominell 0) erliegt die Spontanaktivität der Portalvene vollständig (10, 19, 241; Abb.11, 18A).

Unter diesen Bedingungen vermag KCl (59 mmol/l) keinen eindeutigen und Noradrenalin (10^{-5} mol/l) lediglich einen geringen Spannungsanstieg (3 - 4 % der Norm) zu induzieren (Abb.11). Das Verhalten der Portalvene in nominell Ca-freiem Medium bei KCl- bzw. Noradrenalin-Induktion läßt keinen eindeutigen Hinweis auf bedeutende Unterschiede der am Aktivierungsmechanismus des kontraktilen Apparates beteiligten Komponenten zu und unterscheidet sich in dieser Hinsicht wesentlich von anderen glattmuskulären Gefäßen, wie Aorta oder A.pulmonalis. So wurde bei der Aorta des Kaninchens in Ca-freiem Medium durch Noradrenalin eine Kontraktionsantwort induziert, die 50 - 70 % der Norm erreichte (33, 219).

Als Ursache für das unterschiedliche Verhalten der Gefäße in Ca-freien Lösungen kann die stark variierende Größe der intrazellulären Ca-Speicher angesehen werden. Das Sarkoplasmatische Retikulum, der Hauptspeicher des Calciums in der Zelle, nimmt bei der Aorta 5-7 % und bei der Portalvene nur etwa 2 % des Nucleus- und Mitochondrien-freien Zellvolumens ein (59, 205). DEVINE et al. (59) stellten eine direkte Beziehung zwischen dem Anteil des SR und der Fähigkeit der glatten Muskelzellen, sich in Ca-freiem Medium zu kontrahieren, fest. Dabei wurden jedoch die möglicherweise bei den einzelnen Gefäßen bestehenden Unterschiede zwischen der Ausbildung des granulierten und agranulierten SR und in den Permeabilitätseigenschaften der Zellmembran nicht berücksichtigt (129, 165, 211).

Das Erliegen der Spontanaktivität und der Verlust der induzierten Kontraktionsantwort in Ca-freier Lösung (6, 59, 201, 241) wird auch mit einer elektro-mechanischen Entkopplung in Ver-

bindung gebracht. Als Begründung wird dabei angegeben, daß durch eine Erhöhung der Osmolarität in Ca-freiem Medium ein Spannungsanstieg an der Ratten-Portalvene ausgelöst werden kann, obwohl weder eine Depolarisation noch eine Noradrenalin-Applikation dies vermögen (6). Dabei bleibt jedoch unberücksichtigt, daß bei Erhöhung der Osmolarität im EZR aufgrund der osmotischen Gesetzmäßigkeit der Intrazellulärraum schrumpft. Dies führt bei Konstanz der intrazellulären Calcium-Menge zu einer Erhöhung der Konzentration, in deren Folge es zur Auslösung der Kontraktion kommen kann.

COLLINS et al. (52) kamen aufgrund ihrer Untersuchungen an der Kaninchen-Portalvene zu folgenden Thesen hinsichtlich der Abhängigkeit der Kraftentwicklung des glatten Muskels von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration:

- 1) Die gesamten zur Aktivierung des Kontraktionsmechanismus notwendigen Calciumionen entstammen dem Extrazellulärraum, und es existieren keine gebundenen Calciumionen im Intrazellulärraum, die durch Agonisten freigesetzt werden können.
- 2) Intrazellulär gebundenes Calcium kann zwar als Quelle für die Aktivierung des Kontraktionsmechanismus dienen, jedoch ist extrazelluläres Calcium für seine Freisetzung und für die Aufrechterhaltung der induzierten Kontraktion notwendig.

Die Schwellen-Konzentration des Calciums im EZR für das Auftreten spontaner und durch KCl (59 mmol/l) induzierter Kraftentwicklung liegt bei der Ratten- und Meerschweinchen-Portalvene zwischen 0,1 und 0,3 mmol/l (19,229, 241; Abb.11).

Sowohl die spontanen als auch die induzierten Kontraktionen der V.portae lassen sich durch Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf 2,5 mmol/l wesentlich steigern (Abb.11, 28, 29). Eine weitere Erhöhung des Ca-Gehaltes in der Inkubationslösung hat auf die spontane und die durch Noradrenalin induzierte Aktivität nur noch einen geringen fördernden Effekt.

Bei der KCl-induzierten Kontraktion bewirkt die Erhöhung der

Ca^{++} -Konzentration bis auf 7,5 mmol/l bei logarithmischer Darstellung in der Abszisse eine annähernd lineare Zunahme der tonischen Spannungskomponente (Abb.28) auf durchschnittlich $2,1 \times 10^{-2}$ N, ohne die durch Noradrenalin induzierte Spannungsentwicklung ($3,1 \times 10^{-2}$ N) zu erreichen (Abb.11).

Diese Resultate lassen vermuten, daß es bei den beschriebenen Versuchen unter unseren Bedingungen (Ca nominell 0 bis 7,5 mmol/l) durch Noradrenalin (10^{-5} mol/l) bereits ab 2,5 mmol/l CaCl_2 zu einer vollständigen Aktivierung des kontraktilen Apparates kam, während KCl (59 mmol/l) auch bei 7,5 mmol/l CaCl_2 noch keine maximale Kontraktionsantwort zu induzieren vermochte. Dies deutet darauf hin, daß Noradrenalin möglicherweise über einen zusätzlichen Mechanismus verfügt, die intrazelluläre Konzentration freier Calciumionen zu steigern. Da die intrazellulären Ca-Speicher sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Ansprechbarkeit bei der V.portae eine geringe Rolle zu spielen scheinen, könnte dies auf einen erhöhten transmembranalen Ca^{++} -Influx über α -Rezeptoren kontrollierte Kanäle beruhen.

Die Untersuchungen über den Effekt der lokalanaesthetisch wirkenden Verbindungen Mepivacain und Prilocain sowie des Antiarrhythmikums Tocainid in der Konzentration (10^{-7} bis 10^{-2} mol/l) auf die mechanische Spontanaktivität der isolierten V.portae machen eine biphasische Wirkung deutlich: In niedriger Dosierung stimulieren sie - Mepivacain und Prilocain bis 10^{-3} mol/l und Tocainid bis 6×10^{-3} mol/l - mehr oder weniger stark die phasische und tonische Komponente der Spontanaktivität. In höherer Konzentration kommt es bei allen Substanzen zu einer Unterdrückung der Spontanaktivität (Abb. 17). Die hemmende Potenz verhält sich dabei wie folgt: Mepivacain ist gering stärker als Prilocain und dieses gering stärker als Tocainid.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den von SANDERS (191), BLAIR (22) und ÅBERG et al. (1) an der V.portae der Ratte, und den von ZINNHOBLE (241) an der V.portae des Meerschweinchens gemachten Beobachtungen. Auch diese Autoren berichten über einen biphasischen konzentrationsabhängigen Effekt von Lokalanästhetika.

Vergleicht man die von uns mit den von ZINNHÖBLER (241) unter gleichen Bedingungen untersuchten Substanzen bezüglich der Hemmstärke auf die Spontanaktivität, so ergibt sich folgende Reihe abnehmender Potenz: Tetracain > Lidocain > Mepivacain > Prilocain > Tocainid > Procain.

Unter der Bedingung einer variierenden extrazellulären Ca^{++} -Konzentration konnte eine eindeutige Abhängigkeit sowohl der stimulatorischen als auch der inhibitorischen Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität der V.portae des Meerschweinchens von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration festgestellt werden:

- Niedrige Ca^{++} -Konzentrationen (unter 2,5 mmol/l) unterdrücken den stimulatorischen und fördern den inhibitorischen Effekt
- Hohe Ca^{++} -Konzentrationen (über 2,5 mmol/l) fördern den stimulatorischen und unterdrücken den inhibitorischen Effekt (Abb.18, 19, 20; 228, 241).

Dies kann als Hinweis dafür angesehen werden, daß die Lokalanaesthetika und das Tocainid den intrazellulären Ca^{++} -Pool und somit den Kontraktionsmechanismus beeinflussen.

An verschiedenen glattmuskulären Organen wird eine Interaktion der Lokalanaesthetika mit der transmembranalen Kationenbewegung (Kalium, Calcium) angenommen (66,112, 115, 146, 197, 198). Zusätzlich wird auf verschiedene Möglichkeiten einer Beeinflussung der intrazellulären Ca-Homoeostase hingewiesen.

Um die Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid (stimulierende und hemmende) auf den Kontraktionsmechanismus besser analysieren zu können, verglichen wir ihre Wirkung mit der des spezifischen Ca-Antagonisten Nifedipin und der Ca-Ionophore A 23187.

Hierbei zeigt sich, daß Nifedipin ebenfalls in niedriger Dosierung (10^{-9} - 3×10^{-9} mol/l) stimulierend auf die phasische Aktivität wirkt, ohne dabei jedoch eine tonische Aktivierung zu induzieren, wie dies bei den meisten Lokalanaesthetika zu

beobachten ist. Auch der Hemmeffekt des Nifedipin besteht in einer konzentrationsabhängigen Unterdrückung der Amplitude der phasischen Aktivität (Abb. 21 A).

Die Ionophore führt zu einer deutlichen Steigerung der phasischen Aktivität, die sich vor allem in einer Frequenzzunahme ausdrückt. Ab einer Konzentration von 10^{-6} mol/l induziert die Ionophore zusätzlich einen tonischen Spannungszuwachs (Abb. 21B). Dieser Effekt ist von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig, denn in nominell Ca-freier Lösung vermag die Ionophore das Sistieren der Spontanaktivität nicht zu verhindern (Abb. 21D). Ähnlich dem stimulierenden Effekt der Lokalanaesthetika (3×10^{-4} mol/l; Abb. 20) induziert die Ionophore (10^{-6} mol/l) ab einem Ca-Gehalt von 0,25 mmol/l eine tonische Aktivität, zu der mit steigender Ca^{++} -Konzentration noch eine phasische hinzukommt (Abb. 21D).

Die Abhängigkeit der Ionophoren-Wirkung von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration konnte bereits von REED et al. (182, 183) und ROSENBERGER et al. (187) an glattmuskulären Präparaten festgestellt werden. Eine intrazelluläre Calcium-Freisetzung wie sie von KAFKA et al. (136), MANDREK et al. (158) und ROSENBERGER et al. (187) beobachtet wurde, ist bei der V. portae des Meerschweinchens unwahrscheinlich, denn in nominell Ca-freiem Medium kommt es zu keinerlei Spannungsentwicklung durch die Ionophore (Abb. 21D).

Der stimulierende Effekt der Ionophore wird durch Nifedipin aufgehoben, und es kommt bei 10^{-7} mol/l Nifedipin zum Sistieren der Spontanaktivität, wie es auch ohne Ionophore der Fall ist (vgl. Abb. 21 Fund A).

Die Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität wird durch die Ionophore sowohl stimulatorisch als auch inhibitorisch verstärkt (Abb. 22). Eine Differenzierung zwischen phasischer und tonischer Kontraktionskomponente, die bei der Nifedipin-Wirkung nicht zu beobachten ist, bleibt hier deutlich erhalten.

Auf die Bedeutung des Na/Ca-Verhältnisses in der Inkubationslösung für den Kontraktions-/Relaxations-Mechanismus bei verschiedenen glattmuskulären Organen wurde bereits durch die Autoren (19, 24, 41, 145, 184) hingewiesen.

In einer KREBS-Lösung, in der Natrium durch Calcium isoosmotisch ersetzt wird (Ca-94), kommt es zu einem vorübergehenden Erliegen der Spontanaktivität. Nach ungefähr 10 Minuten setzt ein tonischer Spannungsanstieg ein, der nach weiteren 10 Minuten ein Maximum erreicht. Mit Fortdauer der Inkubation fällt diese tonische Komponente kontinuierlich ab, und die Möglichkeit einer Reversibilität der Spontanrhythmik bei Reinkubation in KREBS-Lösung ist vermindert (Abb. 12).

Die Latenz bis zum Auftreten des tonischen Spannungsanstiegs in Na-freien Medien zeigt im Gegensatz zu seinem Maximum eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (Abb. 13 A bis E). So kommt es in Ca-2,5-Lösung zu einem unmittelbaren Einsetzen der tonischen Aktivierung (Abb. 13A).

Extrazelluläres Natrium (3 - 27 mmol/l) bewirkt nach der Einstellung des tonischen Spannungsmaximums eine Reduzierung der tonischen Spannung, wobei eine weitgehende Unabhängigkeit des durch Natrium vermittelten Relaxationseffektes von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auffällt (Abb. 14 A bis E). Die durch die Na-Applikation bedingte Hyperosmolarität des Mediums kann als Ursache für die Spannungsverminderung ausgeschlossen werden, wie aus Abbildung 15 deutlich zu ersehen ist.

Wird die V.portae in Ca-Lösungen mit unterschiedlichem Na-Gehalt (3, 9, 18, 27 mmol/l) inkubiert, so wird die Entwicklung der tonischen Spannung um so stärker gehemmt, je höher der extrazelluläre Na^{+} -Gehalt ist. 27 mmol/l NaCl vermögen das Auftreten der tonischen Aktivität in allen Ca-Lösungen weitgehend zu verhindern. Dabei besteht eine geringgradige direkte Abhängigkeit des durch Natrium vermittelten Hemmeffektes von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (Abb. 16 Teil I bis IV).

Diese hier zusammengefaßt dargestellten Ergebnisse können

folgendermaßen interpretiert werden:

- 1) Die Induktion des Kontraktionsprozesses ist nicht an die Anwesenheit von Natrium im EZR gebunden.
- 2) Die in Na-freien Medien spontan auftretende Aktivität ist rein tonischer Natur. Das erreichte Maximum ist relativ unabhängig von der Höhe der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (Ca-2,5,-16,-47,-66,-94) und übersteigt das der normalen phasischen Aktivität um annähernd 100 %.
- 3) Die Latenz bis zum Auftreten der tonischen Aktivität in der Ca-Lösung nimmt mit steigendem Ca-Gehalt zu, was in der stabilisierenden Wirkung des Calciums an der Zellmembran begründet sein kann.

Setzt man voraus, daß die V.portae im Intrazellulärraum nur über eine geringe Ca-Speicherkapazität verfügt, so kann für das Zustandekommen der tonischen Kontraktion nur ein transmembranaler Ca^{++} -Influx verantwortlich gemacht werden (24, 41, 186). Geht man zudem davon aus, daß die Kontraktionsantwort bei der glatten Muskulatur der freien zytoplasmatischen Ca^{++} -Konzentration direkt proportional ist, so zeigt sich, daß der transmembranale Ca^{++} -Influx zwar in seiner Größe, jedoch nicht in seinem zeitlichen Verlauf von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration abhängig ist.

- 4) Sowohl das Auftreten als auch der Verlauf der tonischen Spannungskomponente in den Ca-Lösungen zeigen eine eindeutige Abhängigkeit von der extrazellulären Na^{+} -Konzentration. Der Befund, daß sich der durch NaCl bewirkte Hemmeffekt direkt proportional zur Na^{+} -Konzentration, aber reziprok zur Ca^{++} -Konzentration verhält, macht es wahrscheinlich, daß Natrium- und Calciumionen an der Membran miteinander interferieren. Diese Interferenz steht im Einklang mit dem Postulat einiger Autoren (19, 24, 184), daß der Ca^{++} -Influx, d.h. die Verminderung der zytoplasmatischen Ca^{++} -Konzentration eine Funktion der extrazellulären Na^{+} -Konzentration ist.

- 5) Für die Aufrechterhaltung der normalen phasischen Spontarrhythmik scheint ein höheres als das von uns in den Ca-Lösungen untersuchte Natrium/Calcium-Verhältnis (27/2,5) im EZR notwendig zu sein.

Als wesentlicher Faktor bei dem Ablauf des Kontraktions/Relaxations-Mechanismus ist auch das Natrium-Verhältnis zwischen Extrazellulär- und Intrazellulärraum anzusehen (23).

Die Ionophore vermag in Na-freier Ca-2,5-Lösung keinen weiteren Spannungszuwachs der hier spontan auftretenden charakteristischen tonischen Komponente auszulösen (Abb. 21 C). Dies kann als Hinweis dafür gelten, daß der durch die Ionophore auf den Kontraktionsmechanismus der isolierten V.portae vermittelte Effekt nicht nur von extrazellulären Calciumionen, sondern auch wesentlich vom Na/Ca-Verhältnis abhängig ist wie ROSENBERGER et al. (187) am Meerschweinchen-Ileum feststellten.

Nifedipin, welches spezifisch mit dem transmembranalen Ca^{++} -Flux interferieren soll und bei den verschiedenen glattemuskulären Präparaten zur Hemmung des kontraktile Mechanismus führt (21, 35, 68, 71, 72, 85, 88, 89, 93, 95, 99, 164; Abb. 21A), bewirkt in Na-freien Ca-Lösungen nach der Einstellung des tonischen Spannungsmaximums nur eine unwesentliche Förderung des normalen Spannungsabfalls (Abb. 23 B).

Die lokalanaesthetischen Verbindungen Lidocain und Tetracain haben sowohl einen fördernden als auch einen deutlich reduzierenden Effekt auf die tonische Spannungskomponente in den Ca-Lösungen.

Vergleicht man die Wirkung der Ionophore A 23187, des Nifedipin und die der Lokalanaesthetika Lidocain und Tetracain auf den Verlauf der tonischen Spannung in Natrium-freien Ca-Lösungen, so können folgende Überlegungen angestellt werden:

- 1) Die fehlende Wirkung der Ionophore auf den Verlauf der tonischen Komponente nach Einstellung des Kontraktionsmaximums (Abb. 21 C) beruht darauf, daß extrazelluläres Natrium für den Ionophoren-Effekt notwendig ist (224), und der

Hauptangriffspunkt weniger in einer Steigerung der Kontraktionsamplitude als mehr in einer Aktivierung des Kontraktions/Relaxations-Mechanismus liegt, was sich besonders in einer Frequenzsteigerung der phasischen Spontanaktivität äußert (Abb. 21 B).

- 2) Der geringe Effekt von Nifedipin in Na-freier Ca-Lösung (Abb. 23 B) kann als Hinweis dafür gelten, daß für die Aufrechterhaltung der tonischen Spannungskomponente Mechanismen verantwortlich sind, die von Nifedipin nicht angesprochen werden.
- 3) Die relaxierende Wirkung der Lokalanaesthetika auf die tonische Spannungskomponente in Na-freien Ca-Lösungen, wobei auch hier Tetracain stärker wirkt als Lidocain (Abb. 23), zeigt keine Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration (Abb. 24). Die Ursache für diesen Effekt kann sowohl in einer Reduktion der zytoplasmatischen Ca^{++} -Konzentration als auch in einer Interaktion mit dem kontraktilen Apparat liegen.

Die Untersuchungen über den Effekt der Lokalanaesthetika, des Tocainid und des Nifedipin auf die in Ca-Lösungen (2,5 bzw. 94) auftretende mechanische Spontanaktivität zeigen, daß alle Substanzen in niedriger Dosierung - ähnlich wie auf die normale Spontanrhythmik in KREBS-Lösung - eine stimulierende Wirkung sowohl auf den Zeitverlauf als auch auf die erreichte Höhe der tonischen Spannung haben (Tab. 1 und 2).

In höherer Dosierung zeigen sie einen inhibitorischen Effekt auf die Entwicklung der tonischen Spannungskomponente. Dieser weist eine Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration im antagonistischen Sinne auf.

Die inhibitorische Potenz nimmt in folgender Reihe ab: Tetracain > Lidocain > Mepivacain > Prilocain > Tocainid > Procain.

Nifedipin, welches normalerweise in einer Konzentration von 10^{-7} mol/l die mechanische Spontanaktivität der *V. portae* vollständig zum Erliegen bringt, hat in dieser Konzentration in Ca-94-

Lösung lediglich einen minimalen Hemmeffekt auf die spontane tonische Kraftentwicklung. Selbst durch eine sehr hohe Nifedipin-Konzentration von 10^{-5} mol/l kann die tonische Spannungsentwicklung in Ca-94-Lösung nicht vollständig unterdrückt werden (Tab.2).

Tetracain dagegen verhindert in höheren Konzentrationen (über 10^{-3} mol/l) das Auftreten der Spontanaktivität in Na-freien Ca-Lösungen (Tab. 1 und 2). Dies kann die Annahme untermauern, daß die Lokalanaesthetika anders als das Nifedipin noch über zusätzliche Möglichkeiten verfügen, die zytoplasmatische Ca^{++} -Konzentration oder den kontraktilen Mechanismus zu beeinflussen.

Auf die durch KCl bzw. durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen haben die von uns untersuchten Verbindungen (Mepivacain, Prilocain, Tocainid) ebenfalls einen konzentrationsabhängigen biphasischen Effekt: In niedriger Dosierung stimulieren sie und in höherer hemmen sie die induzierten Kontraktionen (Abb.26 A, B). In der Hemmstärke lassen sich hinsichtlich der durch KCl bzw. durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen keine eindeutigen Unterschiede feststellen.

ZINNHOBLER (241) konnte dagegen zeigen, daß Nifedipin, Verapamil und Tetracain eine signifikant stärkere Reduktion der durch KCl induzierten Spannungsanstiege im Vergleich der durch Noradrenalin induzierten bewirkten.

Faßt man die von uns erhaltenen Ergebnisse über die Effekte der Lokalanaesthetika und des Tocainid mit den von ZINNHOBLER (241) unter gleichen Bedingungen erzielten zusammen, so ergibt sich die Reihenfolge abnehmender Hemmstärke: Tetracain > Lidocain > Mepivacain > Prilocain > Tocainid > Procain.

Für alle Lokalanaesthetika (Tetracain, Lidocain, Procain, Mepivacain, Prilocain) und das Antiarrhythmikum Tocainid kann festgestellt werden, daß sie in der die normale Spontanrhythmik unterdrückenden Konzentration (10^{-2} mol/l) die durch Noradrenalin induzierten Kontraktionen wesentlich stärker hemmen als dies Nifedipin in der entsprechenden Dosis (10^{-7} mol/l) vermag.

Andere Verhältnisse zeigen sich hinsichtlich des inhibitorischen Effektes auf die durch KCl induzierten Kontraktionen: Hier bewirken 10^{-7} mol/l Nifedipin, 10^{-3} mol/l Tetracain und 10^{-2} mol/l Lidocain eine vollständige (241) und die übrigen Verbindungen in der Konzentration von 10^{-2} mol/l lediglich eine unvollständige Unterdrückung der Spannungsentwicklung (Abb.26A).

Diese höhere Effektivität von Tetracain, Lidocain, Procain, Mepivacain, Prilocain und Tocainid bezüglich der Hemmwirkung auf die durch Noradrenalin induzierte Kontraktion im Vergleich zu Nifedipin - bei Berücksichtigung der Hemmdosis auf die Spontanaktivität -, könnte damit erklärt werden, daß diese Verbindungen über zusätzliche Möglichkeiten verfügen, die über α -Rezeptoren vermittelte Kontraktionsantwort zu beeinflussen.

Die bereits beim stimulatorischen und inhibitorischen Effekt der Lokalanaesthetika auf die Spontanaktivität aufgezeigte Abhängigkeit vom extrazellulären Ca-Gehalt bestätigte sich auch für ihre Wirkung auf die induzierten Kontraktionen. Auch hier wird durch die Reduzierung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration der stimulatorische Effekt verringert und der inhibitorische gefördert. Eine Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration hat einen gegenteiligen Effekt (Abb. 28, 29).

Die Förderung des inhibitorischen Effektes der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die induzierten Kontraktionen durch verminderte Ca^{++} -Konzentrationen im EZR drückt sich darin aus, daß die sigmoide Dosis-Effekt-Kurve, die eine Abhängigkeit der Kontraktionsamplitude von der Ca^{++} -Konzentration beschreibt, bei Anwesenheit der genannten Pharmaka parallel nach rechts verschoben wird.

Durch Erhöhung der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration kann der durch eine bestimmte Konzentration (3×10^{-4} mol/l) der untersuchten Verbindungen ausgelöste Hemmeffekt in einen stimulierenden, d.h. Linksverlagerung des Kurvenverlaufes, umgewandelt werden (Abb. 28, 29).

Der hier aufgezeigte Antagonismus zwischen Calciumionen und den Lokalanaesthetika und ihren Abkömmlingen konnte bereits an anderen glattmuskulären Organen beobachtet werden. FEINSTEIN (66) spricht sogar über einen kompetitiven Ca-Antagonismus durch die Lokalanaesthetika am Rattenuterus. Eine Interaktion der Lokalanaesthetika sowohl mit dem transmembranalen Ca^{++} -Influx in Form eines Antagonismus als auch mit der Freisetzung membran- und intrazellulär gebundener Calciumionen bzw. mit der intrazellulären Ca-Umverteilung wird von den verschiedenen Autoren als Wirkungsmodus diskutiert (112, 131, 157, 195, 223).

6. ZUSAMMENFASSUNG

Das Kontraktionsmuster der mechanischen Spontanaktivität der V. portae des Meerschweinchens setzt sich aus mehrgipfligen phasischen Kontraktionen zusammen, die in Dauer, Amplitudenhöhe und Frequenz variieren.

Das Maximum der phasischen Kraftentwicklung wird bei einer Vordehnung von 3×10^{-2} Nerreicht.

Mäßige Hyperosmolarität (bis 146 mosm/l) beeinflusst das Aktivitätsmuster nur unwesentlich.

Eine Erhöhung der Inkubationstemperatur von 22-37°C stimuliert die phasischen Kontraktionen.

Aethanol wirkt in niedriger Konzentration (bis 3%) stimulierend; in hoher Konzentration (30%) führt es zum völligen Erliegen der Spontanaktivität.

Das Maximum der durch Noradrenalin bzw. Adrenalin (10^{-5} mol/l) induzierten Kontraktion liegt etwa doppelt so hoch wie das Maximum der durch KCl (59 mmol/l) induzierten.

Eine α -Rezeptoren-Blockade verhindert das Auftreten der durch Katecholamine induzierten Kontraktionen.

Ebenso wie die spontane zeigt die induzierte Kraftentwicklung eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration. Im Gegensatz zur KCl-induzierten läßt sich die Noradrenalin-induzierte Kontraktion durch eine Erhöhung der Ca^{++} -Konzentration über 2,5 mmol/l nicht wesentlich steigern.

Acetylcholin (10^{-6} - 3×10^{-5} mol/l) stimuliert die phasische Aktivität der V. portae; dieser Effekt kann durch Atropin (3×10^{-5} mol/l) vollständig antagonisiert werden.

Die Lokalanaesthetika und das Tocainid haben einen biphasischen Effekt (niedrige Dosierung - stimulierend, höhere - inhibierend) auf die Spontanaktivität, wobei die inhibitorische Wirkung von Mepivacain geringgradig stärker ist als die von Prilocain und diese geringgradig stärker als die von Tocainid.

Sowohl der stimulatorische wie der inhibitorische Effekt zeigen eine eindeutige Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration.

Der spezifische Ca-Antagonist Nifedipin wirkt in niedriger Dosierung (10^{-9} - 3×10^{-9} mol/l) stimulierend, in höherer hemmend auf die Spontanaktivität der V.portae.

Die Ca-Ionophore A 23187 fördert die phasische Aktivität der V.portae. Dieser Effekt erfordert die Anwesenheit extrazellulärer Calciumionen und kann durch Nifedipin aufgehoben werden.

Die Ionophore verstärkt sowohl den stimulierenden als auch den inhibierenden Effekt der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die Spontanaktivität.

In Na-freien Ca-Lösungen kommt es zum Sistieren der phasischen Kontraktionen und zur Induktion einer tonischen Spannungskomponente. Diese tonische Komponente kann durch NaCl-Applikation in konzentrationsabhängiger Weise unterdrückt werden.

Während die Ionophore und das Nifedipin diese in Na-freien Lösungen auftretende Spannungskomponente kaum zu beeinflussen vermögen, zeigen die Lokalanaesthetika konzentrationsabhängig sowohl einen stimulierenden als auch einen deutlich hemmenden Effekt auf die tonische Aktivität in Na-freien Ca-Lösungen.

Die durch KCl und Noradrenalin induzierten Kontraktionen werden durch Mepivacain, Prilocain und Tocainid ebenfalls konzentrationsabhängig stimulatorisch und inhibitorisch beeinflusst. Eine bevorzugte Hemmung bezüglich eines der beiden Induktoren ist nicht festzustellen.

Auch die Wirkung der Lokalanaesthetika und des Tocainid auf die induzierten Kontraktionen zeigt eine deutliche Abhängigkeit von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration.

SUMMARY

The mechanical spontaneous activity pattern of the guinea pig portal vein consists of phasic contractions with complex wave forms of varying duration, amplitude and frequency.

The maximum phasic tension development is obtained by pre-stretching at 3×10^{-2} N.

Low hyperosmolarity (146 mosm/l) does not essentially influence the mechanical pattern.

Rise of temperature from 22 to 37°C stimulates the phasic contractions.

Low concentrations of ethanol (to 3%) increase, high concentrations (30 %) extinguish the mechanical spontaneous activity.

The maximum of norepinephrine and epinephrine induced contractions is twice as high as KCl induced contractions.

A blockade of α -receptors inhibits the appearance of catecholamine induced contractions.

Both the spontaneous activity and the induced contraction are dependent on external calcium. In contrast to KCl induced contractions the norepinephrine induced contractions are not increased essentially by calcium concentrations which are higher than 2,5 mmol/l.

Acetylcholine (10^{-6} - 3×10^{-5} mol/l) stimulates the phasic contractions; this effect is completely antagonized by Atropine (3×10^{-5} mol/l).

Local anesthetics and tocainide affect the spontaneous activity in a biphasic manner (low doses stimulate, high doses inhibit); the inhibitory effect of mepivacaine being minutely stronger than that of prilocaine and the latter being minutely stronger than that of tocainide.

The stimulating as well as the inhibiting effect is considerably influenced by variation of the external calcium concentration.

Low doses of the specific calcium antagonist nifedipine stimulate the spontaneous contractions, high doses inhibit them.

The calcium ionophore A 23187 increases the phasic contractions of the portal vein. This effect requires the presence of external calcium and can be extinguished by nifedipine.

The ionophore amplifies the stimulating as well as the inhibiting effect of the local anesthetics and of tocainide.

The phasic activity of the portal vein is terminated in sodium free calcium solutions, while a tonic tension is developed. This tonic component can be suppressed by addition of NaCl in a concentration dependent manner.

Whereas ionophore and nifedipine hardly influence tension development in sodium free solutions, the local anesthetics have a stimulating (low concentrations) as well as a markedly inhibiting (high concentrations) effect on the tension in sodium free calcium solutions.

The KCl and the norepinephrine induced contractions are also stimulated and inhibited by mepivacaine, prilocaine, and tocainide depending on the concentration of the local anesthetic drugs. An effect favouring one of the inductors could not be observed.

The effect of local anesthetics and tocainide on induced contractions was also found to be dependent on the calcium concentration.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ÅBERG, G., R. ANDERSSON:
Studies on mechanical actions of mepivacaine (carbocaine^R) and its optically active isomers on isolated smooth muscle: Role of Ca^{++} and Cyclic AMP.
Acta Pharmacol. Toxicol. 31, 321-336 (1972)
2. ÅBERG, G., B. WAHLSTRÖM:
Mechanical and electrophysiological effects of some local anaesthetic agents and their isomers on the rat portal vein.
Acta Pharmacol. Toxicol. 31, 255 (1972)
3. AHLQUIST, R.P.:
A study of the adrenotropic receptors.
Am. J. Physiol. 153, 586-600 (1948)
4. ALTURA, B.M., D. MALAVIYA, C.F. REICH, L.R. ORKIN:
Effects of vasoactive agents on isolated human umbilical arteries and veins.
Am. J. Physiol. 222, 345-355 (1972)
5. ANDERSON, D.K.:
Cell potential and the sodium-potassium pump in vascular smooth muscle.
Fed. Proc. 35, 1294-1297 (1976)
6. ANDERSSON, Ch., P. HELLSTRAND, B. JOHANSSON, A. RINGBERG:
Contraction in venous smooth muscle induced by hypertonicity. Calcium dependence and mechanical characteristics.
Acta Physiol. Scand. 90, 451-461 (1974)
7. ARVILL, A., B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Effects of hyperosmolarity on the volume of vascular smooth muscle cells and the relations between cell volume and muscle activity.
Acta Physiol. Scand. 75, 484-495 (1969)
8. ÅSTRÖM, A.:
Influence of some local anesthetics upon the adrenaline contraction of isolated strips of rabbit aorta.
Acta Physiol. Scand. 60, 30-38 (1964)
9. AXELSSON, J., B. JOHANSSON, B. WAHLSTRÖM:
The effect of adrenergic drugs on electrical and mechanical activity of the portal vein.
Bibl. Anat. 8, 16-20 (1966)
10. AXELSSON, J., B. WAHLSTRÖM, B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Influence of the ionic environment on spontaneous electrical and mechanical activity of the rat portal vein.
Circulation Res. 21, 609-618 (1967)

11. BALZER, H., M. MAKINOSE, W. HASSELBACH:
The inhibition of the sarcoplasmic calcium pump by pre-
nylamine, reserpine, chlorpromazine and imipramine.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. Exp. Pathol. 260,
444-455 (1968)
12. BASAR, E., C. EROGLU, P. UNGAN:
An analysis of portal vein spontaneous contractions.
Pflügers Arch. 352, 135-143 (1974)
13. BATRA, S.:
The role of mitochondrial calcium uptake in contraction
and relaxation of the human myometrium.
Biochim. Biophys. Acta 305, 428-432 (1972)
14. BECK, L., A.A. POLLARD, S.O. KAYAALP, L.M. WEINER:
Sustained dilation elicited by sympathetic nerve stimulation.
Fed. Proc. 25, 1596-1606 (1966)
15. BEVAN, J.A.:
Some functional consequences of variation in adrenergic
synaptic cleft width and in nerve density and its distri-
bution.
Fed. Proc. 36, 2439-2443 (1977)
16. BEVAN, J.A., D.W. HOSMER, B. LJUNG, B.L. PEGRAM, C. SU:
Norepinephrine uptake, smooth muscle sensitivity, and me-
tabolizing enzyme activity in rabbit veins.
Circ. Res. 34, 541-548 (1974)
17. BEVAN, J.A., J.V. OSHER:
Effect of potassium on the resting length of vascular smooth
muscle of the rabbit aorta and its response to l-norepine-
phrine.
Circ. Res. 13, 346-351 (1963)
18. BEVAN, J.A., C. SU:
The sympathetic mechanism in the isolated pulmonary artery
of the rabbit.
Brit. J. Pharmacol. 22, 176-182 (1964)
19. BIAMINO, G., B. JOHANESON:
Effect of calcium and sodium on contracture tension in the
smooth muscle of rat portal vein.
Pflügers Arch. 321, 143-158 (1970)
20. BIANCHI, C.P., T.C. BOLTON:
Action of local anaesthetics on coupling systems in muscle.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 157, 388-405 (1967)
21. BILEK, I., R. LAVEN, U. PEIPER, K. REGNAL:
The effect of verapamil on the response to noradrenaline
or to potassium-depolarization in isolated vascular strips.
Microvasc. Res. 7, 181-189 (1974)

22. BLAIR, M.R.:
Cardiovascular pharmacology of local anaesthetics.
Br. J. Anaesth. 47, 247-252 (1975)
23. BLAUSTEIN, M.P.:
Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: A reassessment and a hypothesis.
Amer. J. Physiol. 232, c165-c173 (1977)
24. BLAUSTEIN, J.P.:
The role of Na-Ca-exchange in the regulation of tone in vascular smooth muscle. Excitation-Contraction Coupling in Smooth Muscle, R. Casteels et al. (eds.), Elsevier/North-Holland, Biomedical Press, 101-108 (1977)
25. BOHR, D.F., D. BRODIE, D. CHEU:
Effect of electrolytes on arterial muscle contraction.
Circulation 17, 796-799 (1958)
26. BOHR, D.F., R.S. FILO, K.F. GUTHE:
Contractile protein in vascular smooth muscle.
Physiol. Rev. 42 (Suppl.5), 98-107 (1962)
27. BOHR, D.F., R.L. VERRIER:
Activator calcium for non-neurogenic tone of vascular smooth muscle.
Angiologica 8, 161-171 (1971)
28. BOLTON, T.B.:
Mechanism of action of transmitters and other substances in smooth muscle.
Physiol. Rev. 59, 606-718 (1979)
29. BONACCORSI, A., K. HERMSMEYER, O. APRIGHANO, C.B. SMITH, D.F. BOHR:
Mechanism of potassium relaxation in arterial muscle.
Blood vessels 14, 261-176 (1977)
30. BONACCORSI, A., K. HERMSMEYER, C.B. SMITH, D.F. BOHR:
Norepinephrine release in isolated arteries induced by K⁺-free solution.
Amer. J. Physiol. 232, H140-H145 (1977) or Amer. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol. 1, H140-H145 (1977)
31. BOOZ, K.H.:
Experimentelle Untersuchungen zum Problem der kontraktile aktiven V. portae des Meerschweinchens.
Anat. Anz. 113, 68-80 (1963)
32. BOZLER, E.:
Conduction automaticity and tonus of visceral muscles.
Experientia 4, 213-218 (1948)
33. BOZLER, E.:
Role of calcium initiation of activity of smooth muscle.
Amer. J. Physiol. 216, 671-674 (1969)

34. BRADING, A., E. BÜLBRING, T. TOMITA:
The effect of temperature on the membrane conductance of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 200, 621-635 (1969)
35. BRECHT, K., G. GEBERT, H. NGUEN-DUONG:
Über Wirkungen von elektrischen, ionalen, hormonalen und pharmakologischen Reizen auf die Mechanik von Arterien und Venen und ihre Beeinflussung durch Nifedipine (Adalat.).
Med. Welt 26, 1602-1609 (1975)
36. BRECHT, K., P. KONOLD, G. GEBERT:
The effect of potassium, catecholamines and other vasoactive agents on isolated arterial segments of the muscular type.
Physiol. Bohemoslov. 18, 15-22 (1969)
37. BREEMEN, C.van:
Blockade of membrane calcium fluxes by lanthanum in relation to vascular smooth muscle contractility.
Arch. Int. Physiol. Biochim. 77, 710-716 (1969)
38. BREEMEN, C.van, P. AARONSON, R. LOUTZENHISER:
Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle.
Pharmacol. Rev. 30, No 2, 167-208 (1979)
39. BREEMEN, C.van, P. AARONSON, R. LOUTZENHISER, K. MEISHERI:
Ca⁺⁺-movement in smooth muscle.
Chest 78 (Suppl. 1), 157-165 (1980)
40. BREEMEN, C.van, P. LESSER:
The absence of increased membrane calcium permeability during norepinephrine stimulation of arterial smooth muscle.
Microvasc. Res. 3, 113-114 (1971)
41. BRIGGS, A.H., S. MELVIN:
Ion movements in isolated rabbit aortic strips.
Amer. J. Physiol. 201, 365-368 (1961)
42. BRODY, M.J., R.A. SHAFFER:
Distribution of vasodilator nerves in the canine hindlimb.
Amer. J. Physiol. 218, 470-474 (1970)
43. BÜLBRING, E., T. TOMITA:
Increase of membran conductance by adrenaline in the smooth muscle of guinea-pig taenia coli.
Proc. Roy. Soc. London Ser. B 172, 89-102 (1969)
44. BURNSTOCK, G., M.E. HOLMAN, C.L. PROSSER:
Electrophysiology of smooth muscle.
Physiol. Rev. 43, 482-527 (1963)
45. CARRIER, O., R.K. HESTER, H.A. JUREVICS, T.E. TENNER:
Influence of magnesium on calcium- and potassium-related responses in vascular smooth muscle.
Blood Vessels 13, 321-337 (1976)

46. CARVALHO, A.P.:
Calcium-binding properties of sarcoplasmic reticulum as influenced by ATP, caffeine, quinine and local anaesthetics.
J. Gen. Physiol. 52, 622-642 (1968)
47. CASTEELS, R.:
The relation between the membrane potential and the ion distribution in smooth muscle cells.
In: *Smooth Muscle*, ed. by E. Bülbring, A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 70-99 (1970)
48. CASTEELS, R., G. DROOGMANS:
Membrane potential and excitation-concentration coupling in the smooth muscle cells of the rabbit ear artery.
Proc. Phys. Soc., 2-3 July 1976, *J. Physiol. (London)* 263, 163-164 (1976)
49. CASTEELS, R., K. KITAMURA, H. KURIYAMA, H. SUZUKI:
The membran properties of the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery.
J. Physiol. (London) 271, 41-61 (1977)
50. CASTEELS, R., K. KITAMURA, H. KURIYAMA, H. SUZUKI:
Excitation-contraction coupling in the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery.
J. Physiol. (London) 271, 63-79 (1977)
51. CHUJYO, N., W.C. HOLLAND:
Potassium-induced contracture and calcium exchange in the guinea-pigs taenia coli.
Amer. J. Physiol. 205, 94-100 (1963)
52. COLLINS, G.A., M.C. SUTTER, J.C. TEISER:
Calcium and contraction in the rabbit anterior mesenteric-portal vein.
Canadian J. Physiol. Pharmacol., 50, No 4, 289-299 (1972)
53. COVINO, B.G., Ph.D., M.D., H.G. VASSALLO, Ph.D.:
Local anaesthetics: Mechanisms of action and clinical use.
The Scientific Basis of Clinical Anaesthesia, Grune u. Stratton (1976)
54. CUTHBERT, A.W., M.C. SUTTER:
The effects of drugs on the relation between the action potential discharge and tension in a mammalian vein.
Brit. J. Pharmacol. 25, 592-601 (1965)
55. DANIEL, E.E.:
Attempted synthesis of data regarding divalent ions in muscle function.
In: *Muscle*, ed. by W.M. Paul, E.E. Daniel, C.M. Kay, G. Monckton, Pergamon Press, London, 295-313 (1965)
56. DENGLER, R., R. RÜDEL:
Effects of tocainide on normal and myotonic mammalian skeletal muscle.
Arzneim. Forsch. Drug Res. 29 (I) 2, 270-273 (1979)

57. DETH, R., C.van BREEMEN:
Relative contributions of Ca^{++} -Influx and cellular Ca^{++} -release during drug-induced activation of the rabbit Aorta.
Pflügers Arch. 384, 13-22 (1974)
58. DETH, R., C.van BREEMEN:
Agonist-induced release of intracellular Ca^{++} in the rabbit aorta.
J. Membrane Biol. 30, 363-380 (1977)
59. DEVINE, C.E., A.V. SOMLYO, A.P. SOMLYO:
Sarcoplasmic reticulum and excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscle.
J.Cell Biol. 52, 690-718 (1972)
60. DIAMOND, J., J.M. MARSHALL:
A comparison of the effects of various smooth muscle relaxants on the electrical and mechanical activity of rat uterus.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 168, 21-30 (1969)
61. DORR, L.D., M.J. BRODY:
Functional separation of adrenergic and cholinergic fibers to skeletal muscle vessels.
Amer. J. Physiol. 208, 417-424 (1965)
62. DROGMANS, G., L. RAEYMAEKERS, R. CASTEELS:
Electro- and pharmacomechanical coupling in the smooth muscle cells of the rabbit ear artery.
J. Gen. Physiol. 70, 129-148 (1977)
63. ECKENHOFF, J.E., J.H. HAFKENSCHIEL, C.M. LANDMESSER:
The coronary circulation in the dog.
Amer. J. Physiol. 148, 582-596 (1947)
64. EDGARIAN, H., B.M. ALTURA, B.T. ALTURA:
Pharmacologic actions of ethanol on isolated rat aortic strips (RAS).
Pharmacologist 16, 303 (1974)
65. EDGARIAN, H., B.M. BURTON:
Ethanol and contraction of venous smooth muscle.
Anaesthesiology 44, No 4, 311-317 (1976)
66. FEINSTEIN, M.B.:
Inhibition of contraction and calcium exchange-ability in rat uterus by local anaesthetics.
J. of Pharmacol. Exp. Ther. 152 (3), 516-524 (1966)
67. FEINSTEIN, M.B.:
Pharmacological action of local anaesthetics on excitation-contraction coupling in striated and smooth muscle.
Fed. Proc. 28, 1643-1648 (1969)
68. FEINSTEIN, M.B., M. PAIMRE, M. LEE:
Effect of local anaesthetics on excitation-coupling mechanisms.
Trans. N.Y. Acad. Sci. 30, 1073-1081 (1968)

69. FLECKENSTEIN, A.:
Physiologie und Pharmakologie der transmembranären Natrium-, Kalium- und Calcium-Bewegungen.
Arzneim. Forsch. 22, 2019-2028 (1972)
70. FLECKENSTEIN, A.:
On the basic pharmacological mechanism of nifedipine and its relation to therapeutic efficacy. In: 3rd International Adalat Symposium, ed. by Adib Domingos Jatene and Paul R. Lichtlen. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford, 1-13 (1976)
71. FLECKENSTEIN, A.:
Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers, and vascular smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17, 149-166 (1977)
72. FLECKENSTEIN, A., G. GRÜN:
Prinzipielles zur Wirkung von Ca^{++} -Antagonisten auf die bioelektrische und mechanische Funktion glatter Muskelzellen. In: Vascular Smooth Muscle, ed.: E. Betz, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 62 (1972)
73. FLECKENSTEIN, A., G. GRÜN, H. TRITTHART, Y.K. BYON:
Uterus-Relaxation durch hochaktive Ca^{++} -antagonistische Hemmstoffe der elektromechanischen Kopplung wie Isoptin (Verapamil, Iproveratril), Substanz D 600 und Segontin (Prenylamin). - Versuche am isolierten Uterus virgineller Ratten.
Klin. Wochenschr. 49, 32-41 (1971)
74. FLECKENSTEIN, A., H. TRITTHART, H.-J. DÖRING, K.Y. BYON:
BAY a 1040 - ein hochaktiver Ca^{++} -antagonistischer Inhibitor der elektro-mechanischen Koppelungsprozesse im Warmblüter-Myocard.
Arzneim.-Forsch. (Drug-Res.) 22, 22-33 (1972)
75. FLEISCH, J.H., C. TITUS:
The effect of lokal anaesthetics on smooth muscle responses.
Fed. Proc. 31, 541 (1972)
76. FRIEDMAN, S.M., J.D. JAMIESON, C.L. FRIEDMAN:
Sodium gradient, smooth muscle tone, and blood pressure regulation.
Circ. Res. 7, 44-53 (1959)
77. FUNAKI, S.:
Electrical and mechanical activity of isolated smooth muscle from the portal vein of the rat.
Bibliotheca Anat. 8, 5-10 (1966)
78. FUNAKI, S., D.F. BOHR:
Electrical and mechanical activity of isolated vascular smooth muscle of the rat.
Nature (London) 203, 192-194 (1964)

79. FURCHGOTT, R.F.:
The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors).
An evaluation from the standpoint of receptor theory.
In: Handbook of Experimental Pharmacology: Catecholamines,
ed. by H. Blaschke, E. Muscholl, Springer-Verlag Berlin,
33, 283-335 (1972)
80. FURCHGOTT, R.F., P. BURSZTYN:
Comparison of dissociation constants and of relative effi-
cacies of selected agonists acting on parasympathetic re-
ceptors.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 141, 882-899 (1967)
81. GABELLA, G.:
Effect of potassium on the mechanical activity of taenia
coli, uterus and portal vein of the guinea-pig.
Quart. J. Exp. Physiol. 63, 125-146 (1978)
82. GELLAI, M., R. DETAR:
Evidence in support of hypoxia but against high potassium
and hyperosmolarity as possible mediators of sustained
vasodilation in rabbit cardiac and skeletal muscle.
Circ. Res. 35, 681-691 (1974)
83. GLOVER, W.E.:
Effect of cooling on beta-adrenergic responses in the
rabbit ear artery.
J. Physiol. (London) 224, 91P-92P (1972)
84. GODFRAIND, T.:
Calcium exchange in vascular smooth muscle, action of
noradrenaline and lanthanum.
J. Physiol. (London), 260, 21-35 (1976)
85. GODFRAIND, T., A. KABA:
The role of calcium in the action of drugs on vascular
smooth muscle. Reprinted from Archives internationales de
Pharmacodynamie et de Thérapie, Supplementum to Vol. 196,
35-49 (April 1972)
86. GOLENHOFEN, K.:
Theory of P and T systems for calcium activation in smooth
muscle. In: Physiology of Smooth Muscle, ed. by E. Büll-
bring, M.F. Shuba, Raven Press, New York, 197-202 (1976)
87. GOLENHOFEN, K.:
Die myogene Basis der glattemuskulären Motorik.
Klin. Wochenschr. 56, 211-224 (1978)
88. GOLENHOFEN, K., N. HERMSTEIN:
Differentiation of calcium activation mechanisms in vas-
cular smooth muscle by selective suppression with vera-
pamil and D 600.
Blood Vessels 12, 21-37 (1975)

89. GOLENHOFEN, K., N. HERMSTEIN, E. LAMMEL:
Membrane potential and contraction of vascular smooth muscle (portal vein) during application of noradrenaline and high potassium, and selective inhibitory effects of iproveratril (verapamil).
Microvasc. Res. 5, 73-80 (1973)
90. GOLENHOFEN, K., E. LAMMEL:
Selective suppression of some components of spontaneous activity in various types of smooth muscle by iproveratril (verapamil).
Pflügers Arch. 331, 233-243 (1972)
91. GOLENHOFEN, K., D.v.LOH:
Intrazelluläre Potentialmessungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Portalvene des Meerschweinchens.
Pflügers Arch. 319, 82-100 (1970)
92. GRAHAM, B.H., F. LIOY:
Histaminergic vasodilation in the hind limb of the dog.
Pflügers Arch. Europ., J.Physiol. 342, 307-318 (1973)
93. GRÜN, G., A. FLECKENSTEIN:
Die elektromechanische Entkoppelung der glatten Gefäßmuskulatur als Grundprinzip der Koronardilatation durch 4-(2'-Nitrophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarbon-säure-dimethylester (BAY a 1040, Nifedipine).
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 22, 334-344 (1972)
94. GRÜN, G., A. FLECKENSTEIN, Y.K. BYON:
Ca-antagonism, a new principle of vasodilation.
Proc. Int. Union Physiol. Sci., XXV Int. Congr., Munich, IX, 221 (1971)
95. GRÜN, G., A. FLECKENSTEIN, Y.K. BYON:
Blockierung der Ca^{++} -Effekte auf Tonus und Autoregulation der glatten Gefäßmuskulatur durch Ca^{++} -Antagonisten (Verapamil, D600, Prenylamin, BAY a 1040 u.a.). In: Vascular Smooth Muscle. Ed.: E. Betz, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 69 (1972)
96. GUIMARAES, S.:
Further study of the adrenoceptors of the saphenous vein of the dog: Influence of factors which interfere with the concentrations of agonists at the receptor level.
Europ. J. Pharmacol. 34, 9-19 (1975)
97. GUREVICH, M.I., S.A. BERSHTEIN, ENDOKINOV:
The effect of changes in osmolarity and oxygen tension on excitability and conduction on excitation in vascular smooth muscles. In: Physiology of Smooth Muscle, ed. by E. Bülbbring, M.F. Shuba, Raven Press, New York, 153 (1976)
98. HADDY, F.J.
Local effects of sodium, sodium and magnesium upon small and large blood vessels of the dog fore limb.
Circ. Res. 8, 57-70 (1960)

99. HAEUSLER, G.:
Differential effect of verapamil on excitation-contraction coupling in smooth muscle and on excitation-secretion coupling in adrenergic nerve terminals.
J. Pharmacol. Exp. Ther., 180, No 3, 672-682 (1972)
100. HALJAMAE, H., B. JOHANSSON, O. JONSSON, H. RÖCKERT:
The distribution of sodium, potassium and chloride in the smooth muscle of the rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 78, 255-268 (1970)
101. HARTSHORNE, D.J., Ph.D.:
Biochemical basis for contraction of vascular smooth muscle.
Chest 1, Suppl., 140-149 (1978)
102. HELLSTRAND, P., B. JOHANSSON, A. RINGBERG:
Influence of extracellular calcium on isometric force and velocity of shortening in depolarized venous smooth muscle.
Acta Physiol. Scand. 84, 528-537 (1972)
103. HERLIHY, J.T., R.A. MURPHY:
Length-tension-relationship of smooth muscle of the hog carotid artery.
Circ. Res. 33, 275-283 (1973)
104. HERMSMEYER, K.:
Ba⁺⁺ and K⁺ alternation of K⁺ conductance in spontaneously active vascular muscle.
Amer. J. Physiol. 230, 1031-1036 (1976)
105. HERRON, A., J.N. PATTON, W.F.M. WALLACE:
The effect of temperature on responses of isolated rabbit ear arteries to externally administered l-noradrenaline, d-noradrenaline, histamine and metaraminol.
J. Physiol. (London) 271, 31P-32P (1971)
106. HERXHEIMER, A.:
The Autonomic Innervation of the Skin. In: *Advances in Biology of Skin. Cutaneous Innervation*, ed. by W. Montagna, Oxford: Pergamon Press, 1, 63-73 (1960)
107. HILTON, S.M.:
Experiments on the post-contraction hyperaemia of skeletal muscle.
J. Physiol. (London) 120, 230-242 (1953)
108. HINGHOFFER-SZALKAY, H., T. KENNER, W. ESTELBERGER:
Spectral analysis of spontaneous contraction of the isolated portal vein of rats.
Pflügers Arch. 364, 157-160 (1976)
109. HINKE, J.A.M.:
Calcium requirements for noradrenaline and high potassium ion concentration in arterial smooth muscle (W.M. Paul, E.E. Daniel, C.M. Kay, C. Monckton eds.), Oxford, Pergamon, 269-284 (1965)

110. HINKE, J.A.M., M.L. WILSON, S.C. BURNHAM:
Calcium and the contractility of arterial smooth muscle.
Amer. J. Physiol. 206 (1), 211-217 (1964)
111. HOLMAN, E.M., G.B. KASBY, M.B. SUTHERS, J.A.F. WILSON:
Some properties of the smooth muscle of rabbit portal vein.
J. Physiol. (London) 196, 111-132 (1968)
112. HUDGINS, P.M.:
Some drug effects on calcium movements in aortic strips.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 170 (2), 303-310 (1969)
113. HUDGINS, P.M., G.B. WEISS:
Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 159 (10), 91-97 (1968)
114. HUDLICKA, O.:
Muscle blood flow - its relation to muscle metabolism and function.
Amsterdam: Swets & Zeitlinger (1973)
115. HURWITZ, L., F. BATTLE, G.B. WEISS:
Action of the calcium antagonists cocaine and ethanol on contraction and potassium efflux of smooth muscle.
J. Gen. Physiol. 46, 315-332 (1962)
116. HURWITZ, L., L.J. Mc GUFFEE:
Calcium in smooth muscle function. In: Calcium in Drug Action: IX b 19, Plenum Press: New York, London, 75-93 (1978)
117. HURWITZ, L., A. SURIA:
The link between agonist action and response in smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. 11, 303-326 (1971)
118. ITO, Y., H. KURIYAMA:
Caffeine and excitation-contraction coupling in the guinea-pig taenia coli.
J. Gen. Physiol. 57, 448-463 (1971)
119. ITO, Y., T. OSA, H. KURIYAMA:
Topical differences of caffeine action on the smooth muscle cells of the guinea-pig alimentary canal.
Jap. J. Physiol. 24, 217-232 (1973)
120. JOHANSSON, B.:
Osmotic Properties in vascular smooth muscle cells.
Proc. Symp. Physiol. Pharmacol. Vasc. Neuroeffector Systems: 303-312 (1971)
121. JOHANSSON, B.:
Electromechanical and mechanoelectrical coupling in vascular smooth muscle.
Angiologica 8, 129-143 (1971)

122. JOHANSSON, B.:
Vascular smooth muscle: Biophysics. In: Microcirculation, ed. by B.M. Altura, G. Kaley, Baltimore, University Park Press (1975)
123. JOHANSSON, B.:
Structural and functional changes in rat portal veins after experimental portal hypertension.
Acta physiol. Scand. 98, 381-383 (1976)
124. JOHANSSON, B.:
Process involved in vascular smooth muscle contraction and relaxation.
Circ. Res. 43, Hypertension 26, Suppl. 1, 14-20 (1978)
125. JOHANSSON, B., J. AXELSSON, B. WAHLSTRÖM:
Electrical and mechanical characteristics of vascular smooth muscle response to norepinephrine and isoproterenol.
Circ. Res. 21 (2), 619-633 (1967)
126. JOHANSSON, B., D. JONSSON:
Cell volume as a factor influencing electrical and mechanical activity of vascular smooth muscle.
Acta Physiol. Scand. 72, 456-468 (1968)
127. JOHANSSON, B., B. LJUNG:
Spread of excitation in the smooth muscle of the rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 70, 299-322 (1967)
128. JOHANSSON, B., S. MELLANDER:
Static and dynamic components in the vascular myogenic response to passive changes in length as revealed by electrical and mechanical recordings from the rat portal vein.
Circ. Res. 36, 76-83 (1975)
129. JOHANSSON, B., A.P. SOMLYO:
Electrophysiology and excitation-contraction coupling. In: Handbook of Physiology. Section on Circulation, ed. by D.F. Bohr, A.P. Somlyo, H.V. Sparks, Baltimore, American Physiological Society (1980)
130. JOHNSON, P.N.:
The myogenic response. In: Handbook of Physiology, Section 2, Chapter 15, 409-442 (1980)
131. JOHNSON, P.N., G. INESI:
The effect of methylxanthines and local anaesthetics on fragmented sarcoplasmic reticulum.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 169 (2), 308-314 (1969)
132. JONSSON, O.:
Changes in the activity of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.
Acta Physiol. Scand. 77, 191-200 (1969)

133. JONSSON, O.:
Changes in the cell volume of isolated vascular smooth muscle in response to reduced osmolarity.
Acta Physiol. Scand. 77, 201-211 (1969)
134. JONSSON, O.:
Extracellular osmolarity and vascular smooth muscle activity.
Acta Physiol. Scand. 81, Suppl. 359, 1-48 (1970)
135. JONSSON, O.:
Effects of variations in the extracellular osmolarity on the ion permeability of vascular smooth muscle.
Acta Physiol. Scand. 81, 405-421 (1971)
136. KAFKA, M.S., R.W. HOLZ:
Ionophores X-537 A and A 23187: Effects on the permeability of lipid bimolecular membranes to dopamin and calcium.
Biochim. Biophys. Acta 426, 31-37 (1976)
137. KATASE, T., T. TOMITA:
Na partizipation in the recovery from K-contracture in the guinea-pig taenia coli. From the proceedings of the Physiological Society, 18-17 July 1971.
J. Physiol. (London) 218, 48 (1971)
138. KATZ, L.N., E. LIDNER, W. WINSTEIN, D.I. ABRAHAMSON, K. KOCHIM:
Effects of various drugs on coronary circulation of denervated isolated heart of dog and cat; observations on epinephrine, acetylcholine, acetyl- β -methylcholine, nitroglycerine, sodium nitrite, pitressin and histamine.
Arch. Intern. Pharmacodyn. 59, 399-415 (1938)
139. KEATINGE, W.R.:
The effect of low temperatures on the responses of arteries to constrictor drugs.
J. Physiol. (London) 142, 395-405 (1958)
140. KEATINGE, W.R.:
Mechanism of adrenergic stimulation of mammalian arteries and its failure at low temperatures.
J. Physiol. (London) 174, 184-205 (1964)
141. KEATINGE, W.R.:
Electricical and mechanical responses of the vascular smooth muscle to vasodilator agents and vasoactive polypeptides.
Circulation Res. 17, 641-649 (1966)
142. KEATINGE, W.R.:
Effects of local anaesthetics on electrical activity of smooth muscle of sheep carotid arteries. From: Proceed. of the Physiological Society.
J. Physiol. (London) 240, 36-37 (1974)

143. KÖLLING, K., K.-H. ZINNHOBLER, J. RIEMER:
The effect of local anaesthetics on the spontaneous stimulus-evoked mechanical activity of the isolated guinea-pig portal vein.
Pflügers Arch. 379 R 33 (1979)
144. KRISHNAMURTZ, V.S.R., H.R. ADAMS, T.C. SMITHERMAN, G.H. TEMPLETON, J.T. WILLERSON:
Influence of mannitol on contractile responses of isolated perfused arteries.
Amer. J. Physiol. 232, H59-H66 (1977) or *Amer. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 1, H59-H66 (1977)
145. KÜGELGEN, A. von:
Über das Verhältnis von Ringmuskulatur und Innendruck in den menschlichen großen Venen.
Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 43, 168-183 (1955)
146. KUPERMAN, A.S., B.T. ALTURA, J.A. CHEZAR:
Action of procaine on calcium efflux from frog nerve and muscle.
Nature (London) 217, 673-675 (1968)
147. KURIHARA, S.:
The effect of procaine on the mechanical and electrical activities of the smooth muscle cells of the guinea-pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 25, 775-788 (1975)
148. KURIYAMA, H., K. OHSHIMA, Y. SAKAMATO:
The membrane properties of the smooth muscle of the guinea-pig portal vein in isotonic and hypertonic solution.
J. Physiol. (London) 217, 179-199 (1971)
149. LAMMEL, E., K. GOLENHOFEN:
Erregbarkeit und Ca-Austausch intestinaler glatter Muskulatur (*Taenia coli* des Meerschweinchens) unterhalb der kritischen Temperatur für die Spontanaktivität.
Pflügers Arch. Europ. J. Physiol. 329, 258-268 (1971)
150. LJUNG, G., L. STAGE:
Adrenergic excitatory influences on initiation and conduction of electrical activity in the rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 80, 131-141 (1970)
151. LJUNG, B., O. ISAKSSON, B. JOHANSSON:
Levels of cyclic AMP and electrical events during inhibition of contractile activity in vascular smooth muscle.
Acta Physiol. Scand. 94, 154-166 (1975)
152. LOH, D. von:
The effect of adrenergic drugs on spontaneously active vascular smooth muscle studies by long-term intracellular recording of membrane-potential.
Angiologica 8, 144-155 (16-27) (1971)

153. LOH, D. von:
Untersuchungen zur Acetylcholin-Wirkung auf die Vena portae des Meerschweinchens.
Pflügers Arch. 330, 90-98 (1971)
154. LORENZ, R.R., P.M. VANHOUTTE:
Inhibition of adrenergic neurotransmission in isolated veins of the dog by potassium ions.
J. Physiol. (London) 246, 479-500 (1975)
155. LUNDVALL, J.:
Tissue hyperosmolality as a mediator of vasodilation and transcapillary fluid flux in exercising skeletal muscle.
Acta Physiol. Scand. Suppl. 379, 1-142 (1972)
156. MA, T., D. BOSE:
Sodium in smooth muscle relaxation.
Amer. J. Physiol. 232 (1), C159-C166 (1977)
157. MADEIRA, V.M., A.P. CARVALHO:
Interaction of cations and local anaesthetics with isolated sarcolemma.
Biochim. Biophys. Acta 266, 670-683 (1972)
158. MANDREK, K., K. GOLENHOFEN:
Activation of gastro-intestinal smooth muscle induced by the calcium ionophore A 23187.
INSERM, 50, 343-352 (1975)
159. MAXWELL, L.C., D.F. BOHR, R.A. MURPHY:
Arterial actomyosin: Effects of ionic strength on ATPase activity and solubility.
Amer. J. Physiol. 220, 1871-1874 (1971)
160. MAYER, C.J., C. van BREEMEN, R. CASTEELS:
The action of lanthanum and D 600 on the calcium exchange in the smooth muscle cells of the guinea-pig taenia coli.
Pflügers Arch. 337, 333-350 (1972)
161. MCKINLEY, M.J., J.S. MCKENZIE, J.R. BLAIR-WEST:
Effects of maintained osmolarity changes on rat portal vein spontaneous contractions.
Amer. J. Physiol. 226, 718-723 (1974)
162. MELLANDER, S., B. JOHANSSON, S. GRAY, O. JONSSON, J. LUNDVALL, B. LJUNG:
The effects of hyperosmolality on intact and isolated vascular smooth muscle: Possible role in exercise hyperemia.
Angiologica 4, 310-322 (1967)
163. MIKKELSEN, E., K.-E. ANDERSSON, O. LEDERBALLE PEDERSEN:
The effect of nifedipine on isolated human peripheral vessels.
Acta Pharmacol. Toxicol. 43, 291-298 (1978)

164. MIKKELSEN, E., K.-E. ANDERSSON, O. LEDERBALLE PEDERSEN:
Verapamil and nifedipine inhibition of contractions induced by potassium and noradrenaline in human mesenteric arteries and veins.
Acta Pharmacol. Toxicol. 44, 110-119 (1979)
165. MILLER, L., A.W. JONES:
Ionic permeabilities in phasic and tonic vascular smooth muscle.
Physiologist 19, 298 (1976)
166. MRWA, U., R.J. PAUL, V.A.W. KREYE, J.C. RUEGG:
The contractile mechanisms of vascular smooth muscle.
INSERM 50, 319-326 (1975)
167. MULLINS, L.J.:
A mechanism for Na/Ca transport.
J. Gen. Physiol. 70, 681-695 (1977)
168. MURPHY, R.A.:
Contractile system function in mammalian smooth muscle.
Blood vessels 13, 1-23 (1976)
169. MURPHY, R.A., D.F. BOHR, D.L. NEWMAN:
Arterial actomyosin: Mg, Ca, and ATP ion dependencies for ATPase activity.
Amer. J. Physiol. 217, 666-673 (1969)
170. MURRAY, J.J., O.W. REED, F.S. FAY:
Contraction of isolated smooth muscle cells by ionophore A 23187.
Proc. Nat. Acad. Sci. 72 (11), 4459-4463 (1975)
171. NAKAJIMA, A., L. HORN:
Electrical activity of single vascular smooth muscle fibers.
Amer. J. Physiol. 213, 25-30 (1967)
172. NAKANO, Y., H. MAKIMURA, H. MORITA:
The spontaneous electrical and mechanical activities of isolated vascular smooth muscles in rats.
Bull. Osaka Med. School 16, 63-73 (1970)
173. NAUMANN d'ALNONCOURT, R., M.J. JANSE, B. LÜDERITZ, D. DURRER:
Effects of tocainide on ectopic impulse formation in isolated cardiac tissue.
Klin. Wochenschr. 58, 277-281 (1980)
174. PEIPER, U., M. EHL, U. JOHNSSON, R. LAVEN:
Force velocity relations in vascular smooth muscle.
Pflügers Arch. 364, 135-141 (1976)
175. PEIPER, U., L. GRIEBEL, W. WENDE:
Unterschiedliche Temperaturabhängigkeit der Gefäßmuskelkontraktion nach Aktivierung durch Kalium-Depolarisation bzw. Noradrenalin.
Pflügers Arch. Europ. J. Physiol. 324, 67-78 (1971)

176. PEIPER, U., R. LAVEN, K. REGNAT, E. SCHMIDT:
Mechanical response to stretch of depolarized vascular smooth muscle fibres.
Basic Res. Cardiol. 69, 1-10 (1974)
177. PEIPER, U., E. SCHMIDT:
Relaxation of coronary arteries by electromechanical decoupling or adrenergic stimulation.
Pflügers Arch. 337, 7-17 (1972)
178. PEIPER, U., E. SCHMIDT, R. LAVEN, L. GRIEBEL:
Length tension relationships in resting and activated vascular smooth muscle fibres.
Pflügers Arch. 340, 113-122 (1973)
179. PRICE, H.L.:
Calcium reverses myocardial depression caused by halothan.
Anaesthesiology 41, 576-579 (1974)
180. PUSZKIN, S., E. RUBIN:
Adenosine-diphosphate-effect on contractility of human muscle actomyosin: Inhibition by ethanol and acetaldehyde.
Science 188, 1319-1320 (1975)
181. PUTNEY, J.W.:
Stimulus-permeability coupling: Role of calcium in the receptor regulations of membrane permeability.
Pharmacol. Rev. 30, 209-245 (1978)
182. REED, P.W., H.A. LARDY:
Antibiotic A 23187 as a probe for the study of calcium and magnesium function in biological systems. In: Role of Membranes in Metabolic Regulation, ed. by M.A. Mehlman, R.W. Hanson, Academic Press Inc., London and New York, 111-132 (1972)
183. REED, P.W., H.A. LARDY:
A 23187: A divalent cation ionophore.
J. Biol. Chem. 247, 6970-6977 (1973)
184. REUTER, H., N. SEITZ:
The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition.
J. Physiol. (London) 195, 451-470 (1968)
185. RIEMER, J., F. DÖRFLER, C.-J. MAYER, G. ULBRECHT:
Calcium-antagonistic effects on the spontaneous activity of guinea-pig taenia coli.
Pflügers Arch. 351, 241-258 (1974)
186. RODDIE, I.C.:
The transmembrane potential changes associated with smooth muscle activity in turtle arteries and veins.
J. Physiol. (London) 163, 138-150 (1962)

187. ROSENBERGER, L.B., D.J. TRIGGLE:
Calcium, calcium translocation and specific calcium antagonists. In: Calcium in Drug Action, ed. by B. Georg, C. Weiss, Plenum Press, New York and London, 3-31 (1978)
188. ROSENBERGER, L.B., D.J. TRIGGLE:
The mechanism of action of ionophore A 23187 on guinea-pig intestinal smooth muscle.
Can.J. Physiol. Pharmacol. 57, 348-358 (1978)
189. ROSENBERGER, L.B., M.K. TICKU, D.J. TRIGGLE:
The effects of Ca^{++} -antagonists on mechanical response and Ca^{++} -movements in guinea-pig ileal longitudinal smooth muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 57, 333-347 (1979)
190. RUEGG, I.C.:
Smooth muscle tone.
Physiol. Rev. 51, 201-248 (1971)
191. SANDERS, H.D.:
Procaine-induced contraction in vein and its modification by drugs.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 47, 218-221 (1972)
192. SCHÄDLER, M.:
Proportionale Aktivierung von ATPase-Aktivität und Kontraktionsspannung durch Calciumionen in isolierten kontraktilen Strukturen verschiedener Muskelarten.
Pflügers Arch. 296, 70-90 (1967)
193. SCHMIDT, E., U. PEIPER:
Einfluß der Vordehnung auf die Dynamik der glatten Gefäßmuskulatur.
Pflügers Arch. 333, 314-325 (1972)
194. SCHNAAR, R.L., H.V. SPARKS:
Response of large and small coronary arteries to nitroglycerine, NaNO_2 , and adenosine.
Amer. J. Physiol. 223, 223-228 (1972)
195. SEEMAN, P.:
The membrane actions of anesthetics and tranquilizers.
Pharmacol. Rev. 24 (4), 583-655 (1972)
196. SENEGES, J., R. RÜDEL, E. KUHN:
Naunyn-Schmiedberg's Arch. Pharmacol. 276, 25-33 (1973)
197. SHANES, A.M.:
Distinction between effects on metabolic transport and passiv transfer of ions.
Science 124, 724-725 (1956)
198. SHANES, A.M., W.H. FREYGANG, H. GRUNDFEST, E. AMATINEK:
Anesthetic and calcium action in the voltage clamped squid giant axon.
J. Physiol. (London) 42, 793-802 (1959)

199. SHEYS, E.M., R.D. GREEN:
A quantitative study of alpha-adrenergic receptors in the spleen and aorta of the rabbit.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 180, 317-325 (1972)
200. SIGURDSSON, B.S., B. JOHANSSON, S. MELLANDER:
Rate-dependent myogenic response of vascular smooth muscle during imposed changes in length and force.
Acta Physiol. Scand. 99, 183-189 (1977)
201. SIGURDSSON, B.S., B. UVELIUS, B. JOHANSSON:
Relative contribution of superficially bound and extracellular calcium to activation of contraction in isolated rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 95, 263-269 (1975)
202. SITRIN, M.D., D.F. BOHR:
Ca and Na interaction in vascular smooth muscle contraction.
Amer. J. Physiol. 220, 1124-1128 (1971)
203. SMITH, F.M., G.H. MILLER, V.C. GRABER:
The action of adrenaline and acetylcholine on the coronary arteries of the rabbit.
Amer. J. Physiol. 77, 1-7 (1926)
204. SOMLYO, A.P.:
Cell organelles involved in relaxation. In: *Mechanisms of Vasodilatation*, ed. by P.M. Vanhoutte, Basel, S. Karger (in press)
205. SOMLYO, A.P., C.E. DEVINE, A.V. SOMLYO, S.R. NORTH:
Sarcoplasmic reticulum and the temperature dependent contraction of smooth muscle in calcium-free solutions.
J. Cell Biol. 51, 722 (1971)
206. SOMLYO, A.P., A.V. SOMLYO:
Vascular smooth muscle. Normal structure, pathology, biochemistry and biophysics.
Pharmacol. Rev. 20, 197-272 (1968)
207. SOMLYO, A.P., A.V. SOMLYO:
Ultrastructure of smooth muscle. In: *Pharmacology*, Vol. 3, ed. by E.E. Daniel, D.M. Paton, Plenum Press, New York, 3-45 (1975)
208. SOMLYO, A.P., A.V. SOMLYO:
Ultrastructural aspects of activation and contraction of vascular smooth muscle.
Fed. Proc. 35, 1287-1293 (1976)
209. SOMLYO, A.V., A.P. SOMLYO:
Electromechanical and pharmacomechanical coupling in vascular smooth muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 159, 129-145 (1968)

210. SOMLYO, A.V., A.P. SOMLYO:
Recent studies on mitochondria, golgi apparatus and the organization of the contractile apparatus in vascular smooth muscle.
INSERM 50, 381-398 (1975)
211. SOMLYO, A.V., P. VINALL, A.P. SOMLYO:
Excitation-contraction coupling and electrical events in two types of vascular smooth muscle.
Microvasc. Res. 1, 354-373 (1969)
212. SPARKS, H.V. Jr.:
Effect of quick stretch on isolated vascular smooth muscles.
Circ. Res. 15, Suppl. 1, 254-260 (1964)
213. SPERELAKIS, N.:
Ca⁴⁵ and Sr⁸⁹ movements with contraction of depolarized smooth muscle.
Amer. J. Physiol. 203, 860-866 (1962)
214. STAINSBY, W.N.:
Autoregulation of blood flow in skeletal muscle during increased metabolic activity.
Amer. J. Physiol. 202, 273-276 (1962)
215. STROBEL, G.E., C.P. BIANCHI:
An in vitro model of anesthetic hypertonic hyperpyrexia, halothane-cafein-induced muscle contractions: Prevention of contracture by Procainamide.
Anesthesiology 35, 465-473 (1971)
216. STRUBELT, O., E. PRAEL:
Pharmakologische Wirkungen auf die Kontraktionsfrequenz der isolierten Rattenpfortader.
Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, 198, No 2, 277-291 (1972)
217. SU, C., J.A. BEVAN:
Release of [³H] NA from vasoconstrictor nerves.
J. Pharmacol. 19, 625-626 (1967)
218. SU, C., R.D. BEVAN, S.P. DUCKLES, J.A. BEVAN:
Functional studies of the small pulmonary arteries.
Microvasc. Res. 15, 37-44 (1978)
219. SUTTER, M.C.:
Quantitative effects of external calcium-concentration on contraction of rat portal vein compared to thoracic aorta.
Acta Physiol. Scand. 98, 266-268 (1976)
220. SUZUKI, H., K. MORITA, H. KURIYAMA:
Innervation and properties of the smooth muscle of the dog trachea.
Jap. J. Physiol. 26, 303-320 (1976)

221. SWAMY, V.C., M. TICU, C.R. TRIGGLE, D.J. TRIGGLE:
The action of the ionophores, X537 A and A23187, on
smooth muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 1108-1114 (1975)
222. TAYLOR, R.E.:
Effect of Procaine on electrical properties of squid
axon membrane.
Amer. J. Physiol. 196, 1071-1078 (1959)
223. THORPE, W.R., P. SEEMAN:
The site of action of caffeine and procaine in skeletal muscle.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 179 (2), 324-330 (1971)
224. TRIGGLE, C.R., V.C. SWAMY, D.J. TRIGGLE:
Calcium antagonists and contractile responses in rat vas deferens and guinea-pig ileal smooth muscle.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 59, 804-818 (1979)
225. UMEN, M.J., A. SCARPA:
New synthetic calcium-selective ionophores.
Annales de la New York Academy of Sciences, 307, 448-450 (1978)
226. URAKAWA, N., W.C. HOLLAND:
 Ca^{45} uptake and tissue calcium in K-induced phasic and tonic contraction in taenia coli.
Amer. J. Physiol. 207, 873-876 (1964)
227. UVELIUS, B., B. JOHANSSON:
Relation between extracellular potassium ion concentration and contracture force after abolition of spike discharge in isolated rat portal vein.
Blood Vessels 11, 120-127 (1974)
228. UVELIUS, B., S.B. SIGURDSSON, B. JOHANSSON:
Role of superficially bound Ca for potassium contracture in rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 91, 2A (1974)
229. VANHOUTTE, P.M., R.R. LORENZ:
Effect of temperature on reactivity of saphenous, mesenteric, and femoral veins of the dog.
Amer. J. Physiol. 218, 1746-1750 (1970)
230. VOTH, D., M. AGSTEN, R. SCHIPP, H. LUBCKE:
Untersuchungen zur Wirkung von Angiotensin II auf einen autorhythmischen glatten Gefäßmuskel (Pfortader der Ratte).
Arch. Kreislaufforsch. 65, 41-57 (1971)
231. WAHLSTRÖM, B.A.:
Effects of noradrenaline on ionic contents and ^{42}K and ^{30}Cl fluxes in the rat portal vein.
Proc. Physiol. Soc., J. Physiol (London) 226, 63-64 (1972)

232. WAHLSTRÖM, B.A.:
A study on the action of noradrenaline on ionic content and sodium, potassium and chlorid effluxes in the rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 89, 522-530 (1973)
233. WAHLSTRÖM, B.A., B. SVENNERHOLM:
Potentiation and inhibition of noradrenaline-induced contractions of the rat portal vein in anion-substituted solutions.
Acta Physiol. Scand. 92, 404-411 (1974)
234. WEISS, B.G.:
Quantitative measurement of binding-sites and washout components for calcium ion in vascular smooth muscle.
In: *Calcium in Drug Action* Chapter 3, Plenum Press, New York and London, 57-147 (1978)
235. WIEDERHIELM, C.A.:
Effects of temperature and transmural pressure on contractile activity of vascular smooth muscle.
Bibl. Anat. 9, 321-327 (1967)
236. WIGGERS, C.J.:
The innervation of the coronary vessels.
Amer. J. Physiol. 24, 391-405 (1909)
237. WILCOX, W.D., F. FUCHS:
The effect of some local anesthetic compounds on sarcotubular calcium transport.
Biochim. Biophys. Acta 180, 210-212 (1969)
238. WINKLE, R.A., J.L. ANDERSSON, F. PETERS, P.J. MEFFIN, R.E. FOULES, D.C. HARRISON:
The hemodynamic effects of intravenous tocainide in patients with heart disease.
Circulation 57, 787-792 (1978)
239. YAMASHITA, K., T. TAKAGI, K. HOTTA:
Mobilization of cellular calcium and contraction-relaxation of vascular smooth muscle.
Jap. J. Phys. 27, 551-564 (1977)
240. ZIMMERMAN, B.G.:
Comparison of sympathetic vasodilator innervation of hindlimb of the dog and cat.
Amer. J. Physiol. 214, 62-66 (1968)
241. ZINNHOBLER, K.-H.:
Der Einfluß der Lokalanaesthetika und der extrazellulären Calcium-Konzentration auf die Kontraktilität der V.portae.
Medizinische Dissertation, München (1981)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. K. Kölling für die Anregung zu dieser Arbeit und für die jederzeit gewährte großzügige Unterstützung bei deren Durchführung.

Ferner danke ich Herrn Prof. Dr. U. Lösch und Herrn Privatdozent Dr. J. Riemer für die Durchsicht der Arbeit und die wohlwollende Beratung.

Dem Physiologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Schaffung von guten Arbeitsbedingungen.

LEBENS LAUF

Am 2. Januar 1954 wurde ich als Tochter des Berufsschullehrers Dr. Wolfgang Schwarz und seiner Ehefrau Hermine Schwarz, geb. Haug, in München geboren.

Nach 5jähriger Volksschulzeit in Mühldorf besuchte ich ab 1965 das Gymnasium in Laufen. Dort legte ich 1974 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dort legte ich im Januar 1980 den dritten Teil der Tierärztlichen Prüfung ab und erhielt im März 1980 die Approbation.

Die vorliegende Arbeit entstand in den Jahren 1980 - 1981.

